COUNTWAY LIBRARY
HC 6EB6

BOSTON
MEDICAL LIBRARY
8 THE FENWAY

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE

UND

PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG VON FACHGENOSSEN

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. KREHL † UND DR. W. STRAUB

EMER. PROF. DER SPEZIELLEN PATHOLOGIE UND THERAPIE IN HEIDELBERG

PROF. DER PHARMAKOLOGIE IN MÜNCHEN

195. BAND

MIT 181 TEXTABBILDUNGEN

BERLIN

VERLAG VON F. C. W. VOGEL

1940

Printed in Germany

CATALOGUED
FEB 8 1949
A. B.

BOSTON
FEB 8 1949
MEDICAL LIBRARY

Inhalt des 195. Bandes

Seite

Amann, August, s. Fritz Zinnitz

Barfuß, Franz, s. Oskar Eichler

Becker-Freyseng, H., s. H. Dennig, H. Dorow, H. Heyrodt, R. Rendenbach, G. Schostak, B. Galuba, H. Hellwig, R. Schröder, O. Rave, W. Seidlitz und H. Weißenstein

Bolm, Wilhelm, Die Wirkung des Fumarins 304

Brücke, Franz Th. v., und **Hans Sarkander,** Untersuchungen am Blutegel über den Angriffspunkt des Santonins und anderer muskelerregender Stoffe. Mit 4 Textabbildungen 79

Brücke, Franz v., und **Hans Sarkander,** Über die Verstärkung der Azetylcholinwirkung am Blutegelpräparat durch Aneurin. Mit 1 Textabbildung 218

Bundschuh, Hans Eberhard, Über einen uteruswirksamen Stoff im Harn und seine Beziehung zu Oxytocin und Vasopressin. Mit 4 Textabbildungen 631

Daisky, Alexander, s. Ulrich Hintzelmann

Dennig, H., H. Becker-Freyseng, H. Dorow, H. Heyrodt, R. Rendenbach, G. Schostak, B. Galuba, H. Hellwig, R. Schröder, O. Rave, W. Seidlitz und **H. Weißenstein,** Über künstliche Steigerung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Mit 7 Textabbildungen..... 258

Domenjoz, R., und **A. Fleisch,** Die Wirkung kreislaufaktiver Pharmaka auf die Speicherfunktion der Milz. Mit 4 Textabbildungen..... 609

Dorow, H., s. H. Dennig, H. Becker-Freyseng, H. Heyrodt, R. Rendenbach, G. Schostak, B. Galuba, H. Hellwig, R. Schröder, O. Rave, W. Seidlitz und H. Weißenstein

Druckfehlerberichtigung 232

Eichler, Oskar, und **Franz Barfuß,** Untersuchungen über den Histamingehalt des Blutes bei Infusion von Adrenalin und Histamin. Überlegungen nach dem Le Chatelierschen Prinzip..... 245

Eichler, Oskar, und **Georg Speda,** Versuche über die Abhängigkeit des Histamingehaltes im Blutplasma von der Atmung. Mit 1 Textabbildung 152

Seite

Erbacher, Kurt, Paul Grumbrecht und **Arnold Loeser,** Nikotin und innere Sekretion. I. Funktionsstörungen innersekretorischer Organe durch Nikotin. Mit 11 Textabbildungen 121

Evers, A., s. O. Girndt

Fahr, A., s. F. Heim

Feuchtinger, O., Über die Gehaltsbestimmung und den Gehalt von Vitamin D in handelsüblichen Lebertranen. Mit 1 Textabbildung 573

Fiedler, H., s. H.-A. Oelkers

Fleisch, A., s. R. Domenjoz

Forst, A. W., Pharmakologische Untersuchung über die Lactuca virosa. Mit 7 Textabbildungen 1

Gabel, W., Beitrag zur Problematik der Blei-Porphyrinurie. (Untersuchungen am Harn von Pflanzenfressern.) Mit 1 Textabbildung 365

Gabel, W., Zur Bewertung des Bleigehaltes der Leber. (Untersuchungen an bleigeschädigten Pflanzenfressern.) Mit 1 Textabbildung.... 383

Galuba, B., s. H. Dennig, H. Becker-Freyseng, H. Dorow, H. Heyrodt, R. Rendenbach, G. Schostak, H. Hellwig, R. Schröder, O. Rave, W. Seidlitz und H. Weißenstein

Gelinsky, Gerd, Studien über Methämoglobinbildung. XIX. Mitteilung: Rückbildung des Methämoglobins bei verschiedenen Tierarten. Mit 3 Textabbildungen 460

Genuit, H., Vergleichende Untersuchungen über die temperatursenkende und gefäßlähmende Eigenschaft verschiedener Alkohole 505

Genuit, H., und **H. Wagner,** Untersuchungen über die Glykosidbindung des Herzens unter pathophysiologischen Bedingungen. Mit 1 Textabbildung 523

Geßner, Otto, und **Hans-Joachim Haack,** Über Azorhodan..... 221

Girndt, O., und **A. Evers,** Über den Einfluß ein- und doppelseitiger Abtragung der Großhirnrinde auf die Wirkungsstärke einiger pupillenerweiternder Mittel. Mit 3 Textabbildungen..... 280

Göpfert, H., F. Gross und **K. Matthes,** Über die Wirkung gefäßaktiver Substanzen auf den peripheren Kreislauf beim Menschen. Mit 6 Textabbildungen 93

Gotsev, T., Die Bedeutung der Blutgefäße und des Herzens für die Regulierung des Blutdruckes. IV. Mitteilung: Azetylcholin. Wirkung auf die Blutgefäße, das Herz und den Blutdruck. Mit 7 Textabbildungen 26

Gotsev, T., Die Bedeutung der Blutgefäße und des Herzens für die Regulierung des Blutdruckes. V. Mitteilung: Adrenalin, Wirkung auf die Blutgefäße, das Herz und den Blutdruck. Mit 5 Textabbildungen 348

Seite

Gotsev, T., Die Bedeutung der Blutgefäße und des Herzens für die Regulierung des Blutdruckes. VI. Mitteilung: Die Wirkung gleichzeitiger und aufeinanderfolgender Einverleibung zweier verschiedener Stoffe. Veränderungen im Blutdruck und im Zustand der Blutgefäße. Mit 7 Textabbildungen 491

Gross, F., s. H. Göpfert und K. Matthes

Grumbrecht, Paul, und **Arnold Loeser,** Nikotin und innere Sekretion. II. Arbeitsschäden der Frau in Tabakfabriken? 143

Grumbrecht, Paul, und **Arnold Loeser,** Künstliche Brunststoffe. Leberinsuffizienz durch 4, 4′-Dioxy-α, β-Diäthylstilben? Mit 5 Textabbildungen 445

Grumbrecht, Paul, s. Kurt Erbacher und Arnold Loeser

Haack, Hans-Joachim, s. Otto Geßner

Hauschild, F., Zur Pharmakologie der Phenylalkylamine. Mit 15 Textabbildungen 647

Heim, F., und **A. Fahr,** Der Einfluß verschiedener Narcotica und des Harnstoffs auf die Aktivität der Cholinesterase des Blutes. Mit 4 Textabbildungen 59

Hellwig, H., s. H. Dennig, H. Becker-Freyseng, H. Dorow, H. Heyrodt, R. Rendenbach, G. Schostak, B. Galuba, R. Schröder, O. Rave, W. Seidlitz und H. Weißenstein

Heyrodt, H., s H. Dennig, H. Becker-Freyseng, H. Dorow, R. Rendenbach, G. Schostak, B. Galuba, H. Hellwig, R. Schröder, O. Rave, W. Seidlitz und H. Weißenstein

Hintzelmann, Ulrich, und **Alexander Daisky,** Gibt es eine entgiftende Wirkung von Mineralwässern gegenüber Spartein? 203

Hofmann, H., Über die Wertbestimmung von Digitalissuppositorien. Mit 1 Textabbildung 555

Jaretzky, R., und **E. Risse,** Vergleichende Untersuchungen über Harz- und Gerbstoffgehalt sowie Wirksamkeit verschiedener Convolvulaceen 226

Jarisch, A., und **H. Richter,** Zur Frage der Wirkstoffe in der Mistel. Mit 2 Textabbildungen 89

Jung, Fritz, Studien über Methämoglobinbildung. XVIII. Mitteilung: Der Kreisprozeß Phenylhydroxylamin—Nitrosobenzol. Mit 2 Textabbildungen 208

Junkmann, K., Einiges über Spasmolytica. Mit 1 Textabbildung 175

Kelbling, Wolfgang, Schutzwirkung des Nebenschilddrüsenhormons gegen Vergiftung mit Curarin. Mit 4 Textabbildungen 567

Seite

Kesztyüs, L., s. S. Went und K. Piribauer

Konzett, Heribert, und **Richard Rössler,** Versuchsanordnung zu Untersuchungen an der Bronchialmuskulatur. Mit 2 Textabbildungen 71

Kuttelwascher, Hans, Untersuchungen über „Veritol". Mit 3 Textabbildungen ... 540

Liebig, Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens. I. Der Kohlehydratgehalt des menschlichen Herzens bei verschiedenen Erkrankungen ... 465

Liebig, Hans, Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens. II. Experimentelle Untersuchungen. Der Einfluß der Ernährung auf den Kohlehydratgehalt des Herzens ... 617

Loeser, Arnold, s. Kurt Erbacher und Paul Grumbrecht

Loeser, Arnold, s. Paul Grumbrecht

Lutz, Hans, Einfluß von Säure und Alkali auf die Vergiftung des Muskels durch Phenol und Thymol ... 681

Matthes, K., s. H. Göpfert und F. Gross

Montenbruck, Dietrich, Beitrag zum Abbau der α-Aminosäuren. Über das Verhalten der Mandelsäure im Organismus ... 164

Müller, Wilhelm, Über Phosphorwasserstoffvergiftung (Tierversuche). I. Mitteilung: Akute und subakute Vergiftung. Mit 3 Textabbildungen ... 184

Oelkers, H.-A., Zur Pharmakologie des Chenopodiumöls. Mit 3 Textabbildungen ... 315

Oelkers, H.-A., und **H. Fiedler,** Zur Kreislaufwirkung des Tetrachlorkohlenstoffs. Mit 4 Textabbildungen ... 117

Piribauer, K., s. S. Went und L. Kesztyüs

Puhlmann, Hans, Über den Einfluß von pflanzlichen Hautreizstoffen auf das Wachstum des experimentellen Mäusecarcinoms. Mit 6 Textabbildungen ... 413

Rauchschwalbe, Herbert, Permeabilitäts-Studien mit Cortidyn ... 425

Rave, O., s. H. Dennig, H. Becker-Freyseng, H. Dorow, H. Heyrodt, R. Rendenbach, G. Schostak, B. Galuba, H. Hellwig, R. Schröder, W. Seidlitz und H. Weißenstein

Reiser, Mario, Der Umrechnungsfaktor Meerschweinchen/Frosch für k-Strophanthin ... 199

Reiser, Mario, Über die Darmwirkung von Pervitin und Benzedrin. Mit 3 Textabbildungen ... 603

Seite

Rendenbach, R., s. H. Dennig, H. Becker-Freyseng, H. Dorow, H. Heyrodt, G. Schostak, B. Galuba, H. Hellwig, R. Schröder, O. Rave, W. Seidlitz und H. Weißenstein

Rentz, E., s. F. Zinnitz

Richter, H., s. A. Jarisch

Riedel, H., Zur Biologie des 2, 4-Diaminoazobenzols. III. Mitteilung: Chemisches über Azorhodan „R". Mit 2 Textabbildungen 75

Riedel, Herbert, Zur Biologie des 2, 4-Diaminoazobenzols. IV. Mitteilung: Versuche über die keimtötende Wirkung des Azorhodan R und Beobachtungen über das sonstige Verhalten dieser Verbindung 194

Riedel, Herbert, Zur Biologie des 2, 4-Diaminoazobenzols. V. Mitteilung: Versuche mit reiner Chrysoidinbase und einigen daraus hergestellten Verbindungen 295

Risse, E., s. R. Jaretzky

Rössler, Richard, s. Heribert Konzett

Roufogalis, Sotirios, und **Josef Ströder,** Über den Einfluß des Diphtherietoxins auf das isolierte Kaltblüterherz. Mit 1 Textabbildung..... 363

Runcan, Veniamin, Über die Beziehungen der Cholinesterase zur Muskelkontraktion 439

Runcan, Veniamin, Cholinester aus isolierten Froschherzen ohne Vagusreizung. Mit 4 Textabbildungen 516

Sarkander, Hans, s. Franz Th. v. Brücke

Sarkander, Hans, s. Franz v. Brücke

Schostak, G., s. H. Dennig, H. Becker-Freyseng, H. Dorow, H. Heyrodt, R. Rendenbach, B. Galuba, H. Hellwig, R. Schröder, O. Rave, W. Seidlitz und H. Weißenstein

Schroeder, W., Der Einfluß der Calciumionen auf die Erregbarkeit des Vagus und Sympathicus. Mit 7 Textabbildungen 691

Schroeder, W., Methode zur Messung der Hämolysegeschwindigkeit roter Blutkörperchen. Mit 2 Textabbildungen 706

Schröder, R., s. H. Dennig, H. Becker-Freyseng, H. Dorow, H. Heyrodt, R. Rendenbach, G. Schostak, B. Galuba, H. Hellwig, O. Rave, W. Seidlitz und H. Weißenstein

Schulze, Ernst, Über die Beziehungen zwischen Hypophysenvorderlappen und Schilddrüse bei D-Hypervitaminose. Mit 1 Textabbildung.. 276

Seidlitz, W., s. H. Dennig, H. Becker-Freyseng, H. Dorow, H. Heyrodt, R. Rendenbach, G. Schostak, B. Galuba, H. Hellwig, R. Schröder, O. Rave und H. Weißenstein

Seite

Speda, Georg, s. Oskar Eichler

Straub, W., und **E. Triendl,** Über die Messung analgetisch-sedativer Wirkungen am Tier und die Übertragbarkeit der Messungsresultate auf den Menschen. Mit 7 Textabbildungen 481

Ströder, Josef, s. Sotirios Roufogalis

Švec, Franz, Die enterale Resorption von g-Strophanthin und ihre Beeinflußbarkeit durch Digitonin. II. Mitteilung. Mit 3 Textabbildungen 233

Triendl, E., s. W. Straub

Urban, Gerhart, Untersuchungen über die Wirkung des Schöllkrauts auf die Abscheidung der Galle 43

Waerden, B. L. van der, Wirksamkeits- und Konzentrationsbestimmung durch Tierversuche. Mit 4 Textabbildungen 389

Wagner, H., s. H. Genuit

Walther, Richard, Beiträge zur Differenzierung der pharmakologischen Wirkungen von Stoffen der Digitalisgruppe. I. Vergleich der Wirkung von Digitoxigenin und Digitoxin auf das Elektrokardiogramm der Katze. Mit 6 Textabbildungen 709

Weißenstein, H., s. H. Dennig, H. Becker-Freyseng, H. Dorow, H. Heymodt, R. Randenbach, G. Schostak, B. Galuba, H. Hellwig, R. Schröder, O. Rave und W. Seidlitz

Went, S., K. Piribauer und **L. Kesztyüs,** Weitere Untersuchungen über Antithyreoglobulin und Antithyroxin 721

Wetzel, R., und **R. von Zitzewitz,** Phlorrhizin und Zellatmung. II. Mitteilung 52

Wirth, Friedrich, Über Schutzwirkungen des A. T. 10 gegen Curarinvergiftung 564

Zinnitz, Fritz, und **August Amann,** Ein Beitrag zum Nachweis der cholinergischen Gefäßinnervation. Mit 3 Textabbildungen 592

Zinnitz, F., und **E. Rentz,** Über die Wirkung einiger Gefäß- und Herzmittel auf die Cholinesterase im Blut. Mit 9 Textabbildungen... 329

Zitzewitz, R. von, s. R. Wetzel

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Pharmakologische Untersuchung über die Lactuca virosa.

Von

A. W. Forst.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Februar 1940.)

Die Lactuca virosa, der Giftlattich, ist ein naher Verwandter des Gartenlattichs, Lactuca sativa, des gewöhnlichen Gartensalates oder Kopfsalates. Dieser wurde im Altertum meist der Abendmahlzeit zugesellt, da er nicht nur als wohlschmeckende Speise, sondern auch als angenehmes, mildes Schlafmittel galt. Tacitus, Galen und viele andere priesen die sedative Wirkung des Salates mit höchstem Lobe [siehe bei Pitschaft[1], Bidault de Villiers[2], Seidel[3], Fronmüller[4]].

Läßt man den Gartensalat nach Entfaltung seines Kopfes weiterwachsen, so schießt er in die Stengel und nimmt allmählich die Natur des wildwachsenden Salates an. Der in der freien Natur wild vorkommende Lattich heißt Giftlattich, Lactuca virosa. Wie alle anderen Latticharten enthält der Giftlattich einen Milchsaft, der eine hypnotische Wirkung besitzt, die stärker ist als die der anderen Lactucaarten (Schlemmer[5]).

Der Milchsaft des Giftlattichs besitzt beim Austritt aus der Pflanze eine rein weiße Farbe. An Licht und Luft wird er ziemlich rasch gelblich und schließlich braun. In lufttrockenem Zustande stellt dieser Milchsaft das sogenannte Lactucarium der alten Ärzte dar.

Die Dunkelfärbung erfolgt durch Oxydationsvorgänge (Bauer und Brunner[6], Schenck und Graf[7]). Sie entwickelt sich so weit ins dunkle Braun, daß das Lactucarium an das Aussehen des Mohnsaftes erinnert. Diese Ähnlichkeit in der Entstehung, in der Gewinnung und im Aussehen hat dem Lactucarium den Namen „Opium frigidum" eingetragen, der durch die hypnotische Wirkung des Lactucariums besonders begründet erschien.

Es kann hier nicht auf die außerordentlich weite Verbreitung des Lactucariums als Hypnoticum, Sedativum, insbesondere als Spezificum zur Hustenstillung sowie auf seine Bedeutung als Heilmittel bei den ver-

[1] Pitschaft, J. A.: Hufeland J. prakt. Heilkde. **60**, 111—112 (1825). — [2] Bidault de Villiers: J. compl. du dict. des sc. méd. Paris **13**, 313—320 (1822). — [3] Seidel, E.: J. f. Arzneimittellehre **2**, 1—87, Leipzig 1839. — [4] Fronmüller (sen.): Dtsch. Klinik **14**, 395—399, 410—411, 418—420, 430—432 (1826). [5] Schlemmer, F.: Die Deutsche Heilpflanze **3**, 87—89 (1937). — [6] Bauer, K. H., u. K. Brunner: Pharmaz. Z.halle Dtschld. **77**, 589—601 (1936). — [7] Schenck, G., u. H. Graf: Arch. Pharmaz. **274**, 537—542 (1936).

schiedenartigsten Krankheiten im 19. Jahrh. eingegangen werden. Ein kurzer Überblick wurde in einer früheren Veröffentlichung bereits gegeben (Schenck[8], Forst[9]); dort finden sich auch Hinweise auf ältere Übersichten. Eine erschöpfende Darstellung der Geschichte der Lactucapflanzen in der Therapie soll an anderer Stelle geliefert werden.

Angeführt seien hier lediglich die Versuche, die einige Ärzte an sich selbst mit Lattichdrogen ausgeführt haben.

Als erster hat Coxe[10] in Philadelphia (1799) Opium sowie den Milchsaft von Lactuca sativa an sich selbst vergleichend geprüft. Er fand ähnliche Wirkungen hypnotischer Art bei innerlicher Einnahme gleicher Dosen von Opium und Lactucarium. Ganzel[11] (1819) empfand nach Einnahme von 0,6 g eines nach Duncan[12] bereiteten Extrakts von L. sativa vorübergehend unwiderstehlichen Schlafdrang; 2,5—4,0 g bewirkten zunächst ein Gefühl von Ekel, sodann ruhigen Schlaf von kurzer Dauer ohne sonstige Nachwirkung. Gleiche Beobachtungen machte er an einigen Freunden. Er schließt aus seinen Versuchen, daß Nebenwirkungen nur nach großen Dosen auftreten und beurteilt den Extrakt aus L. sativa als gutes Hypnoticum. Diese Ansicht wurde von Klink[13] (1820) bestätigt. Klink verfiel nach Einnahme von 4,0 g getrocknetem Milchsaft sowohl von L. sativa wie von L. virosa in einen mehrstündigen tiefen Schlaf ohne Betäubung.

Rothamel[14] in Heidelberg berichtet über Selbstversuche mit Pariser Lactucarium, einer mit Wasser gut mischbaren Zubereitung aus L. sativa. Nach Einnahme von 0,2—0,35 g bemerkte er ein eigentümliches Gefühl von Leichtigkeit im ganzen Körper ohne Spur narkotischer Zufälle; 0,4—0,5 g bewirkten tagsüber genommen unruhigen, abends genommen ruhigen Schlaf. Höhere Dosen von 0,66—1,0 g verursachten langen, wenig erholsamen Schlaf und längere Zeit anhaltende Pupillenerweiterung. Die größte Dosis von 1,33 g führte zu 15stündigem Schlafe mit Pupillenerweiterung und Akkomodationsstörung, die den Schlaf um mehrere Stunden überdauerte. Rothamel erprobte dieses Lactucarium auch an einer großen Zahl von Kranken. Als Nebenwirkung sah er gelegentlich Übelkeit, Mattigkeit, Schwindel und Gliederschmerzen, jedoch niemals ernstere Vergiftungsmerkmale.

Wibmer[15] verspürte nach 0,1 g gut bereitetem Extrakt von Lactuca virosa zunächst Stirnkopfschmerz; eine viertel Stunde nach der Einnahme stellte sich große Schläfrigkeit ein. Schroff[16] empfand nach 0,2—1,0 g Lactucarium austriacum von L. sativa Neigung zum Schlaf. Frisches, sorgfältig bereitetes Lactucarium von L. virosa rief in Dosen von 0,2—0,4 g keine besonderen Nebenerscheinungen hervor.

Grundlegende Untersuchungen an 170 Kranken hat Fronmüller (1862) (l. c.) in Erlangen angestellt. Bei Verwendung des Lactucarium germanicum aus L. virosa

---

[8] Schenck, G.: Münch. med. Wschr. **84**, 1250—1251 (1937). — [9] Forst, A. W.: Ebenda **84**, 1251—1254 (1937). — [10] Coxe, John Redman: Transactions of the american philosophical Society **4**, 387—414, Philadelphia 1799. — [11] Ganzel, C. L.: De lactuca sativa et lactucario. Diss. Berlin 1819. — [12] Duncan, A.: Observations on the preparation of sopoforic medicines from garden lettuce . . . Edinburgh 1813. Deutsche Übersetzung enthalten in: Beobachtungen über die unterscheidenden Symptome der 3 Hauptgattungen der Lungenschwindsucht . . . Übersetzt von J. A. Choulant, S. 109—116. Leipzig 1817. — [13] Klink, A.: Lactucae virosae et sativae analysin chemicam. Diss. Kiel 1820. — [14] Rothamel, G.: Heidelberger klin. Ann. **5**, 277—296, Heidelberg 1829. — [15] Wibmer, K.: Die Wirkung der Arzneimittel und Gifte im gesunden tierischen Körper. Bd. 3, S. 196—200, München 1837. — [16] v. Schroff, C. D.: Lehrbuch der Pharmakologie. 1. Aufl., S. 509, Wien 1856; 2. Aufl., S. 526—528, Wien 1862.

als Schlafmittel hatte er bei 44% vollen, bei 43% teilweisen und bei 13% keinen Erfolg. Als wirksame Dosis ermittelte er 0,6–2,0 g Lactucarium. Todesfälle durch Lactucarium oder andere Zubereitungen des Giftlattichs sind niemals vorgekommen.

Frühere Tierversuche.

Pharmakologische Versuche an Tieren sind nur sehr vereinzelt angestellt worden. Als erster hat Coxe (1799) (l. c.) das Lactucarium an Fröschen geprüft. Nach Verabfolgung eines wässerigen Extrakts oder einer Tinktur von L. sativa blieb der Fluchtversuch aus, die Tiere ertrugen Rückenlage und zeigten Merkmale weiterer Lähmungen. Das Herz blieb stets unbeeinflußt. Versuche von Orfila[17] an Hunden beweisen eigentlich nichts weiter, als daß L. virosa kaum gefährlicher ist als der Gartensalat. Er fand, daß 1,5 Pfund frische Blätter der L. virosa einem Hunde verfüttert nichts schadeten und daß 12 g Extrakt einem Hunde in den Magen gebracht, bei nachfolgender Oesophagusunterbindung erst nach 46 Stunden töteten. Ganzel (1819) (l. c.) prüfte einen nach der Vorschrift von Duncan (l. c.) mittels Alkohol bereiteten Extrakt der L. sativa. Beim Hunde bewirkten 0,66–1,3 g innerlich genommen nach 1 Stunde tiefen Schlaf; 2,6 g verursachten zunächst Erbrechen, sodann ebenfalls tiefen Schlaf. Nach subcutaner Einspritzung von 0,66 g des gleichen Extrakts in wässeriger Verdünnung schlief ein Hund rasch ein, bekam dann heftiges Zittern der Glieder, schwere Atmung und starb am 3. Tage. Ein Kaninchen verhielt sich nach subcutaner Injektion von 2 g ebenso und starb auch am 3. Tage.

Hirschfeld[18] verfütterte Extrakte von L. virosa und L. sativa an Finken, Kreuzschnäbel, Sperlinge, sowie an Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten. Am empfindlichsten gegen Giftlattich schienen die Kaninchen zu sein. Bei Dosen von 0,6–1,25–2,5 g gerieten die Tiere nach einigen Stunden in einen der Trunkenheit ähnlichen Zustand, verbunden mit Anzeichen von Übelkeit, Kolikschmerzen, begleitet von verengter Pupille und verstärkter Harnabsonderung. Nach $2^1/_2$ Tagen trat der Tod ein.

Versuche von Gerber[19], den Wirkungsmechanismus des Lactucariums auf die Muskulatur der Iris an Kaninchen zu erklären, blieben ohne eindeutiges Ergebnis.

Die einzige umfangreichere und planmäßige Untersuchung am Tier hat Skworzoff[20] in Moskau mit einem nicht näher definierten „Giftlattichextrakt" angestellt. Aus seinen zahlreichen und sehr mühsamen Versuchen an Fröschen, Kaninchen und Hunden glaubte er als charakteristische Wirkung des Giftlattichs eine Herabsetzung der willkürlichen und Reflexbewegungen erkannt zu haben. Die Erregbarkeit des Rückenmarks solle sinken und verschwinde schließlich ganz von oben nach unten. Die Lähmung des Gehirns komme erst später und sei nur die Folge verminderter Zirkulation und Atmung. Nach Skworzoff verlieren auch die motorischen Nerven ihre Reizbarkeit vom Zentrum nach der Peripherie hin.

Diese Ergebnisse besitzen wenig Wert, da Skworzoff nicht Lactucarium verwandte, sondern „seiner guten Löslichkeit und bequemen Anwendung wegen" einen 2 : 8 verdünnten Extrakt aus Giftlattich. Dieser Extrakt wurde ohne vorherige Reinigung intravenös oder intraarteriell beigebracht. Vermutlich hat Skworzoff das „Extractum Lactucae" der Ph. G. I (Ausgabe 1. 11. 1872) in Händen gehabt, das aus frischem blühendem Kraut durch Auspressen mit kaltem

[17] Orfila, M. P.: Traité de Toxicologie (Traité des poisons 1. Aufl., Paris 1814). Übersetzung Berlin 1818, Bd. 3, S. 220; ferner 4. Aufl. 1843 [ref. in Buchner, Rep. Pharmaz. **97**, 39–40 (1847)] und 5. Aufl. 1853, Bd. 2, S. 259. — [18] Hirschfeld, H.: De lactuca virosa et scariola. Diss. Berlin 1833. — [19] Gerber, Th. Aug.: Quo modo Lactucarium musculos iridis afficiat. Diss. Berlin 1863. — [20] Skworzoff: Arbeiten aus dem Pharmakol. Inst. zu Moskau, herausgeg. von A. Sokolowski, Bd. I, S. 167–197, Moskau 1876.

Wasser gewonnen wurde. Dieses enthielt viel Mineralsalze. Schon Rothamel (l. c.) hatte darauf hingewiesen, daß das Extractum Lactucae sativae den getrockneten Milchsaft an salzsauren und schwefelsauren Salzen bei weitem übertrifft und weniger kräftig beruhigend wirkt. Ebenso erkannte Buchner[21] (l. c., S. 67) einen wesentlichen Unterschied zwischen dem Extractum L. virosae und dem Lactucarium und betonte, „daß die Salze in dem Preßsaft der frischen Pflanze, sowie im wässerigen Aufguß der getrockneten Lactuca in verhältnismäßig größerer Menge vorhanden sind als in dem Milchsafte". Vergleichende Aschebestimmungen von Buttin[22] bestätigen diese Angaben. Unter den Aschebestandteilen konnte Ludwig[23] Kalium und Magnesium nachweisen. Nach Graf[24] enthält getrocknetes Lactucarium 6,47% Gesamtasche. Davon sind 78,36% Magnesium. Eine erschöpfende wässerige Auskochung von Lactucarium enthielt 4,68% Asche, davon 93,16% Magnesium. 1 kg grüne Pflanze lieferte 5,79 g Asche. Ein nach der Ph. G. I bereiteter Extrakt aus 1 kg grüner Pflanze enthielt bei 20–25 g Extraktausbeute 1,38–1,10% Magnesium und 12,29–9,83% Kalium.

Die toxische Einwirkung auf das Nervensystem, die Skworzoff feststellte, stammt daher nicht von den Bitterstoffen, sondern müssen auf Kalium und Magnesium zurückgeführt werden. Das geht auch eindeutig daraus hervor, daß Skworzoff resorptive Wirkungen nur nach parenteraler Zufuhr seines Extrakts erzielen konnte, nicht aber bei Eingabe per os. Hierzu stimmt auch die Angabe von v. Bibra[25], daß bei innerlichem Gebrauch von Lactuca keine verdächtigen Erscheinungen beobachtet wurden, bei Einspritzungen in die Venen jedoch häufig heftige Zufälle und Tod eintraten.

Es war notwendig, diese Befunde ins richtige Licht zu stellen, da die Angaben von Skworzoff in das Schrifttum auch der allerjüngsten Zeit kritiklos übernommen worden sind.

Es ist mir nicht gelungen, die Skworzoffschen Versuchsergebnisse zu bestätigen (vgl. S. 15).

In der neueren Zeit sind physiologische Versuche mit Giftlattich nur noch angestellt worden zur Entscheidung der Frage, ob dieser einen mydriatischen Stoff besitzt (Braithwaite und Stevenson[26], Farr und Wright[27], Munch, Pratt und Byers[28].

Das außerordentlich spärliche Material pharmakologisch erwiesener Tatsachen steht in krassem Gegensatz zu der interessanten Geschichte der Lactuca, insbesondere zu dem außerordentlich reichhaltigen ärztlichen Schrifttum über diese Droge, die bei den verschiedensten Indikationen zur Verwendung gelangte, wobei ihre zentral sedative Wirkung, insbesondere ihre starke hustenstillende Kraft, im Vordergrund stand.

Das eingehende Studium der Mitteilungen der alten Ärzte und Apotheker (über 300 Literaturangaben) ließ es aussichtsreich erscheinen, diese Heilpflanze einer erneuten pharmakologischen Prüfung mittels neuzeitlicher Methoden zu unterziehen.

[21] Buchner, A.: Rep. Pharmaz. **97**, 19–68, Nürnberg 1847. — [22] Buttin, L.: Schweiz. Wschr. Pharmaz. **9**, 281–283, Schaffhausen 1871. — [23] Ludwig, H.: Arch. Pharmaz. **100**, 128–140 (1847). — [24] Graf, H.: Private Mitteilung. — [25] v. Bibra, E.: Die narkotischen Genußmittel und der Mensch. S. 253–261, Nürnberg 1855. — [26] Braithwaite, J. O., u. H. E. Stevenson: The Pharmaceut. J. (London) **71**, 148 (1903). — [27] Farr, E. H., u. F. C. S. Wright: Ebenda **72**, 186–187 (1904). — [28] Munch, J. C., H. J. Pratt u. G. E. Byers: J. amer. pharmaceut. Assoc. **22**, 943–947 (1933).

Die Lactuca, in vielen Ländern bis in das 20. Jahrh. hinein offizinell, war schließlich in Mißkredit geraten wegen der schwankenden Wirksamkeit, die einzelne Zubereitungsformen entfalteten, gleichgültig, ob diese von verschiedenen Lactuca-Abarten, oder nur von ein und derselben Varietät stammten. Als erwiesen durfte die Tatsache gelten, daß unter den verschiedenen Lactucafamilien die stärkste sedative und hustenstillende Wirkung der Lactuca virosa zukommt. Ich beschränkte daher meine Untersuchungen auf diese Pflanze.

Zunächst stellte ich mir die Aufgabe, das Lactucarium des Handels zu prüfen und wenn nötig, eine andere galenische Zubereitungsform des Giftlattichs zu finden, die mit Sicherheit eine regelmäßig wiederkehrende Wirkung im Tierversuch nachweisen ließ. Sodann galt es Reinstoffe zu isolieren, als etwaige Träger der Wirksamkeit zu erkennen und zutreffendenfalls eine Anreicherung dieser Wirkstoffe unter Beseitigung unnötiger Ballaststoffe zu erstreben*.

Die pharmazeutisch-chemische und pharmakologisch-chemische Forschung ging stets Hand in Hand, so daß der Gang der Untersuchungen nicht durch Aufarbeitung unwirksamer Fraktionen gehemmt war.

Pharmazeutische Versuche.

Das Lactucarium des Handels wird in Form flacher Hütchen von etwa 6—7 cm Durchmesser geliefert, die zum Teil weitgehend zersetzt, häufig sogar vollkommen verschimmelt sind [29]. Zur Untersuchung wurden nur unzersetzte Stücke verwandt, die einen weißgelben Bruch aufwiesen.

Dieses Lactucarium stellt eine harte, spröde Masse dar, die wegen des sehr hohen Gehalts an Kautschukgummi weder direkt mit fettem Öl, Paraffinöl oder Wasser in eine homogene Emulsion gebracht werden kann, noch zu einem feinen Pulver zerreibbar ist.

Um für die erste orientierende Toxizitätsprüfung eine injizierbare Zubereitung zu erhalten, half ich mir auf folgende Weise: Zuerst wurde das Lactucarium kleingeschnitten, mit einem Lösungsmittel für Kautschuk (Benzol, besser Chloräthyl) aufgeweicht, fein verrieben, und so dem Olivenöl oder Paraffinöl zugesetzt. Das Benzol bzw. Chloräthyl wurde durch Einstellen in warmes Wasser verjagt und der letzte Rest im Vakuum verflüchtigt. Auf diesem Wege konnte ich doch eine gleichmäßige ölige Emulsion erzielen, die subcutan und per os Mäusen beigebracht werden konnte. Oder es wurde das Lactucarium in Chloräthyl fein verteilt, mit trockenem Gummi arabicum angerieben, durch Zusatz von Wasser in Emulsion gebracht, worauf dann das Chloräthyl verflüchtigt und die verbleibende wässerige Emulsion wie oben zugeführt wurde.

In Form dieser Emulsion zu 2,5 oder 5% in Olivenöl oder Paraffinöl wurde das Lactucarium von der Maus per os zu 2,5 mg/g (wohl auch mehr) vertragen. Subcutan wurden 1,25 mg/g ertragen, 2,5 mg/g waren tödlich.

[29] Schenck, G., u. H. Graf: Arch. Pharmaz. **274**, 537—542 (1936).

* Der pharmazeutische Teil dieser Arbeit wurde in Gemeinschaft mit dem Pharmazeutischen Institut der Universität Heidelberg und der Pflanzenchemischen Forschungsabteilung der Knoll A.-G. Ludwigshafen, der pharmakologische Teil von mir im Pharmakologischen Institut der Universität München durchgeführt.

Ein ganz frisches Lactucarium, das durch Verreiben und Sieben pulverförmig erhalten werden konnte, war in 10%iger Suspension in Wasser per os zu 3,0 mg/g erträglich; 4,0 mg/g waren tödlich. Dem üblichen Handels-Lactucarium entzog ich außerdem mittels Benzol den größten Teil des Kautschuks, wobei 33% des Lactucariums in das Benzol übergingen. Vom Rückstand wurden per os 2,5 mg/g (3,75 mg/g Original-L.) vertragen, 5,0 mg/g (7,5 mg/g Original-L.) waren tödlich. Subcutan waren schon 0,25 mg/g (= 0,375 mg/g Original-L.) tödlich. Durch die Entfernung des Kautschuks steigt also die Wirkung bei subcutaner Injektion wesentlich; vermutlich wegen des Wegfalls der resorptionshemmenden Wirkung des Kautschuks. Damit erklärt sich auch die bessere klinische Wirkung kautschukfreier chemischer Zubereitungen aus dem Giftlattich, z. B. des Latucyls.

Die vollkommene Entfernung des Kautschuks aus dem Lactucarium bereitete zunächst Schwierigkeiten. Sie gelang schließlich durch Aufweichen und Verreiben des Lactucariums in viel Chloräthyl, Verflüchtigen des Chloräthyls und mehrtägige Extraktion des so aufgeschlossenen Lactucariums im Soxleth mit Petroläther. Die in der Extraktionshülse zurückbleibende Masse ließ sich zu einem staubfeinen hellgelben Pulver vermahlen, das noch alle Wirkstoffe enthielt. In den Petroläther waren nur Kautschuk und harzartige Stoffe übergegangen.

100 g Handelslactucarium lieferten 57,1 bzw. 57,6 g in Petroläther nicht löslichen Anteil. Im Vakuum über Schwefelsäure waren die Endgewichte 54,3 bzw. 52,68 g.

Eine Verarbeitung größerer Mengen auf den angegebenen Wegen erwies sich als zu zeitraubend. Ich versuchte daher einen Extrakt mit Hilfe solcher Lösungsmittel herzustellen, die möglichst wenig Kautschuk aufnehmen. Die Verwendung von Methylalkohol, Äthylalkohol, Aceton führte zu neuen Schwierigkeiten. Die mit diesen Lösungsmitteln bereiteten Extrakte enthielten in großer Menge Lactucerin, einen leicht kristallisierbaren Wachsalkohol, der vollkommen unwirksam ist, und im Lactucarium bis zu etwa 66% enthalten ist.

Über den esterartigen Charakter des Lactucerins haben in jüngster Zeit Bauer und Schub[30], sowie Bauer und Brunner[31] eingehende Mitteilungen gemacht.

Um einen Extrakt zu erhalten, der frei von Lactucerin ist, bestimmte ich die Löslichkeiten des reinen kristallisierten Lactucerins in wässerigen Gemischen der obengenannten Lösungsmittel. Dabei erwies sich das Lactucerin löslich in Aceton von 100–50%, Äthylalkohol von 100 50% und Methylalkohol von 100–80%. Als Extraktionsmittel wählte ich daher einen 50%igen Methylalkohol.

1 kg Lactucarium wurde mit 2 Liter 50%igem CH_3OH 14 Tage bei Zimmertemperatur stehengelassen bis zum vollkommenen Zerfall. Darauf wurde dekantiert und der Rückstand noch zweimal mit je 2,5 Liter 50%igem CH_3OH erschöpfend extrahiert. Nach Absaugen des CH_3OH wog der Rückstand lufttrocken 668 g.

Das Filtrat wurde vom Methylalkoholanteil durch Eindampfen im Vakuum (40°-Bad) befreit. Schon während des Eindampfens schieden sich anfangs gummiartig-schmierige Verunreinigungen ab, die abfiltriert wurden (4,4 g). Nach vollkommenem Verjagen des Methylalkohols schieden sich im Kälteschrank noch weitere Verunreinigungen in fester Form ab, die ausgewaschen und auf Ton getrocknet wurden. Gesamtgewicht 18,0 + 4,4 g = 22,4 g. Die klare wässerige Lösung wurde im Vakuum bei 40° Badtemperatur auf 600 ccm eingeengt. Das p_H des Konzentrats war etwas unter 4,0. Eine kleine Probe dieses wässerigen Stammextrakts von 20 ccm hinterließ im Exsikkator 5,8 g Trockensubstanz. Der Stammextrakt aus 1 kg Lactucarium enthält demnach 175 g Trockensubstanz.

Dieser Extrakt erwies sich gegenüber dem Originallactucarium als etwas weniger toxisch. Von der Maus wurden subcutan 0,025 ccm/g ertragen; tödlich

[30] Bauer, K. H., u. E. Schub: Arch. Pharmaz. **267**, 413–424 (1929).
[31] Bauer, K. H., u. K. Brunner: Ebenda **276**, 605–617 (1938).

waren 0,05 ccm/g. Diese Werte entsprechen 2,1 mg/g bzw. 4,2 mg/g Lactucarium. Das Lactucarium war in Suspension subcutan zu 2,5 mg/g tödlich.

Von Ludwig[32] war im Lactucarium auch Oxalsäure nachgewiesen worden. Nach Gadamer-Schmidt[33] soll sie darin zu 1% enthalten sein. Um zu prüfen, ob an der Toxizität des Extrakts vielleicht Oxalsäure wesentlich beteiligt ist, habe ich eine Probe des originalsauer reagierenden Extrakts ohne Zusatz von Mineralsäure 3–4mal 24 Stunden mit Äther perforiert. Nachdem der Äther nichts mehr aufnahm, hatte sich die Azidität der wässerigen Phase nur wenig verändert. 1 ccm verbrauchten jetzt 3,6 ccm n/10 NaOH gegen 3,8 ccm vor der Ätherperforation. Auf die 600 ccm Stammextrakt umgerechnet, entspricht der Verlust an Säure 12,0 ccm n/1 Oxalsäure = 540 mg Oxalsäure. Bezieht man den gesamten Aziditätsverlust durch die Ätherextraktion allein auf Oxalsäure, so hätte der Äther aus der gesamten Extraktmenge von 600 ccm maximal 0,54 g Oxalsäure entziehen können (vgl. S. 9).

Im Laufe der Perforation setzten sich aus dem Äther unreine Kristallmassen ab. Sie waren im kalten Wasser kaum löslich, somit keine freie Oxalsäure. Nach mehrmaligem Waschen mit kaltem Wasser ließen sie sich aus heißem Wasser ziemlich unverändert umkristallisieren. Der Geschmack der Lösung war auch in stärkster Verdünnung noch äußerst bitter.

Durch mehrmaliges Auflösen in heißem Wasser unter Zugabe von Tierkohle erhielt ich eine farblose Lösung (A), die beim Erkalten unreine, schwach gelblich gefärbte Kristalle hinterließ. Diese wurden abgesaugt und im Exsikkator getrocknet. Auf der Suche nach einem geeigneten Lösungsmittel zur Reinigung dieser Kristalle erwiesen sich mir aus einer großen Reihe Methylenchlorid, Äthylenchlorid, Dichloräthylen und Tetrachloräthylen als brauchbar. Besonders Methylenchlorid und Dichloräthylen lieferten direkt sechseckige Kristalle. Diese ließen sich jetzt auch aus Chloroform und wiederum aus Wasser gut umkristallisieren. Aus Chloroform erschienen quadratische Täfelchen. Schließlich konnten schöne rhombische Prismen bei langsamem Erkalten aus n-Propylalkohol erhalten werden. Die Kristalle schmeckten stark bitter und hatten einen Schmelzpunkt von 142°.

Eine kleine Probe der mit Tierkohle gereinigten wässerigen Lösung (A) wurde zunächst mit Methylenchlorid und dann mit Äther perforiert. Aus der ätherischen Extraktion schieden sich im Extraktionskolben Kristalle ab, die sich leicht aus Wasser umkristallisieren ließen. Sie schmeckten ebenfalls stark bitter und schmolzen bei 219°. Diese Kristalle sind demnach das Lactucin, ein Bitterstoff, der schon von Buchner[34] in unreiner Form und später von Walz[35] in reiner Form dargestellt worden war. Lactucin hat nach Bauer und Brunner[36] die Formel $C_{18}H_{20}O_6$.

Somit hatte die Perforation des von Methylalkohol befreiten Originalextrakts mit Äther ein Gemisch von Lactucin und einem zweiten Bitterstoff geliefert, der zum ersten Male kristallisiert vorlag. Bei letzterem handelt es sich wahrscheinlich um die Substanz, die Ludwig und Kromayer[37] in amorpher Form aus einer ätherischen Lösung des Bitterstoffgemisches gewonnen und Lactucopikrin benannt hatten.

Um eine größere Menge der beiden Bitterstoffe zu isolieren, unterwarf ich die Hauptmenge des mittels Tierkohle aufgehellten wässerigen Originalextrakts (A) der Perforation, teils mit Methylenchlorid, teils mit Chloroform. Beide Lösungsmittel lieferten beim Einengen quadratische Kristalle, die beim Chloroform weniger rein

---

[32] Ludwig, H.: Arch. Pharmaz. **100**, 1–19, 129–140 (1847). — [33] Schmidt, E.: Ausf. Lehrb. d. Pharmaz. Chemie **2**, 1551, Braunschweig 1923. — [34] Buchner, A.: Rep. Pharmaz. **43**, 1–27, Nürnberg 1832. — [35] Walz, G. F.: Der Milchsaft des Giftlattichs chemisch untersucht. Inn.-Diss. d. philosoph. Fakultät Heidelberg 1839. — [36] Bauer, K. H., u. K. Brunner: Ber. Dtsch. Chem. Ges. **70**, 261 bis 263 (1937). — [37] Ludwig, H., u. F. A. Kromayer: Arch. Pharmaz. **161**, 1–3 (1862).

waren als beim Methylenchlorid. Zweimaliges Umkristallisieren aus heißem Wasser unter Zugabe von Tierkohle lieferte wieder Kristalle des zweiten Bitterstoffs vom Schmelzp. 148°.

Dieser Bitterstoff, das Lactucopikrin, zu dem Schenck und Graf[38] auf etwas anderem Wege gelangten, und der auch von Bauer und Brunner[39] isoliert und Neolactucin benannt wurde, hat nach Bauer und Brunner die Formel $C_{23}H_{25}O_7$ und ist stark ungesättigt. Vermutlich ist er mit dem Lactucin chemisch verwandt. Das Lactucopikrin scheint Lactoncharakter zu besitzen. Gesättigte Bicarbonatlösung löst es auch im Laufe mehrerer Tage nicht auf, dagegen erfolgt leicht Auflösung in Natronlauge. Dabei nimmt die nun entbitterte Lösung rasch eine Gelbfärbung an. Sofortiger Zusatz von Salzsäure fällt gelbe Flocken aus, die nunmehr durch Bicarbonat leicht in Lösung zu bringen sind. Die Darstellung der freien Säure, die dem vermutlichen Lacton entsprechen würde, steht jedoch noch aus. Diese freie Säure könnte vielleicht mit der Lactucasäure von Pfaff[40] identisch sein, die auch von Ludwig[41] bestätigt wurde, von Buchner[42] jedoch als eine Mischung von Lactucin und Ätherweinsäure angesehen wurde.

Der durch Chloroform bzw. Methylenchlorid von Lactucopikrin befreite wässerige Extrakt wurde nach erneuter Aufhellung durch Tierkohle dreimal 24 Stunden lang mit Äther erschöpfend perforiert. Der Äther lieferte ansehnliche Mengen von Lactucin zunächst als leicht gelb gefärbte, dann als weiße rhombische Prismen, die aus Wasser, Methanol, Äthanol, n-Propyl- oder n-Butylalkohol umkristallisiert werden konnten. Besonders günstig als Kristallisationsmittel war der Isobutylalkohol. Er lieferte Kristalle vom Schmelzp. 221°. [Das ganz reine Lactucin schmilzt bei 226°, wie Schenck und Graf[43] feststellen konnten.] Dort auch nähere Angaben über die Löslichkeit der beiden Bitterstoffe in verschiedenen Lösungsmitteln, die beide in kaltem Wasser sehr schwer löslich sind.

Die reinen Bitterstoffe sind rechtsdrehend, das Natriumsalz des Lactucopikrins dreht links.

Lactucin: 0,4437 g in 75 ccm 96%igem Alkohol; $l = 4$, $\alpha = +1{,}25°$, $(\alpha)_D^{20} = +52{,}82°$.

Lactucopikrin: 0,555 g in 35 ccm Methanol; $l = 1$, $\alpha = +0{,}75°$, $(\alpha)_D^{20} = +47{,}3°$.

Lactucopikrin-Natrium: 2 g Lactucopikrin mit n/1 NaOH rasch gelöst, mit n/1 HCl schwach angesäuert und nach Zusatz von Wasser mit wenig Natriumbicarbonat neutralisiert. Zum Schluß mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt. Die Konzentration ist auf freies Lactucopikrin berechnet.

$$c = 2:100; \quad l = 1, \quad \alpha = -0{,}29°, \quad (\alpha)_D^{20} = -14{,}5°.$$

Die Weiterverarbeitung des bisher in originalsaurem Zustande von den Bitterstoffen befreiten Extrakts erfolgte mit der Absicht, ein etwa vorhandenes Alkaloid und die Säuren, besonders Oxalsäure, zu isolieren.

Dymond[44] hatte durch Extraktion mit Chloroform aus L. virosa ein mydriatisches Alkaloid isoliert, das mit Hyoscyamin identisch sein sollte (siehe S. 4).

---

[38] Schenck, G., u. H. Graf: Arch. Pharmaz. **275**, 36—44 (1937). — [39] Bauer, K. H., u. K. Brunner: Ber. Dtsch. Chem. Ges. **70**, 261—263 (1937). — [40] Pfaff, C. H.: System der Materia medica **6**, 500—505, Leipzig 1821; **7**, 312—315, Leipzig 1824; Taschenbuch f. Scheidekünstler und Apotheker **44**, 171—172, Weimar 1823. — [41] Ludwig, H.: Arch. Pharmaz. **100**, 1—19, 129—140 (1847). — [42] Buchner, A.: Rep. f. d. Pharmazie **97**, 19—68, Nürnberg 1847. — [43] Schenck, G., u. H. Graf: Arch. Pharmaz. **275**, 36—44 (1937). — [44] Dymond, T. S.: J. Chem. Soc. London **61**, 90—94 (1891); Pharm. J. and Transact. **22**, 449 (1891).

Ich perforierte den Stammextrakt je zweimal 24 Stunden zunächst in originalsaurem Zustande mit Chloroform, sodann nach Alkalisierung mittels Ammoniak wiederum mit Chloroform. Der Rückstand der Chloroformextrakte wurde an der Maus auf mydriatische Wirkung geprüft, jedoch ohne eindeutiges Ergebnis.

Darauf wurde der ammoniakalische Stammextrakt mit der doppelten Menge 96%igen Alkohols versetzt, wobei etwa 11 g Ammonsalze verschiedener Säuren als Kristalle ausfielen. Diese Kristalle wurden in Wasser gelöst und nach Entfärbung der Lösung mit Tierkohle erneut mit Alkohol gefällt. Nach Absaugen, Waschen mit Alkohol und Äther und Trocknen im Exsikkator, wurden 8,9 g reine Ammonsalze

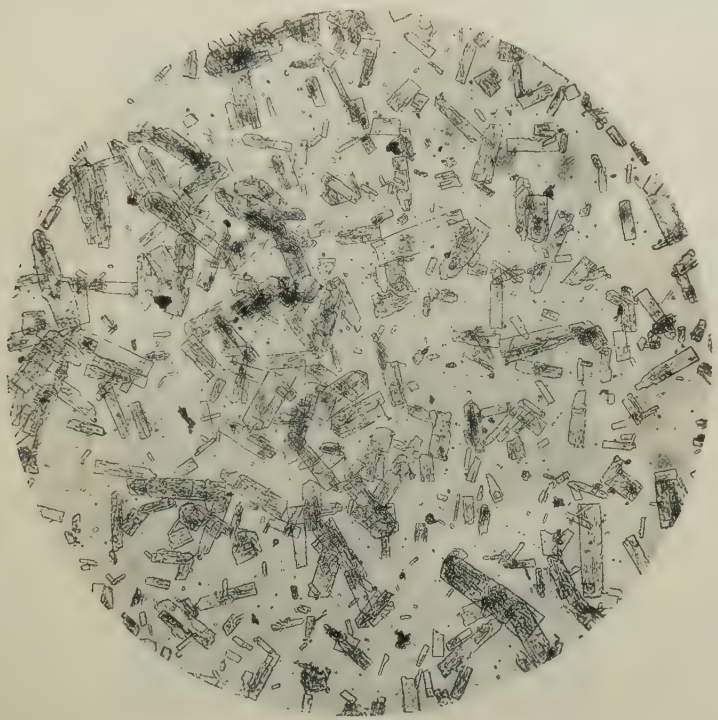


Abb. 1. Lactucopikrin.

gewonnen. Die Mutterlauge lieferte weitere 1,2 g, so daß die Gesamtmenge der Ammonsalze 10,1 g betrug. Ein geringer Anteil dieser Salze war Ammonsulfat.

1 g des Ammonsalzgemisches verbrauchte 12,55 ccm n-$KMnO_4$. Angenommen, das Gemisch enthielte keine Salze anderer Säuren, die durch $KMnO_4$ in der Kälte rasch oxydiert werden, würde die Titration 0,72 g Ammonoxalat anzeigen.

Um die Oxalsäure von anderen Säuren zu trennen, wurden 5,0 g des Ammonsalzgemisches in etwa 1000,0 ccm H_2O gelöst und nach Ansäuern mit H_2SO_4 14 Tage lang mit Äther perforiert. Die Extraktion jedes Tages wurde mit Natronlauge sowie mit $KMnO_4$ titriert, und ergab stets für Oxalsäure richtige Werte.

Aus der angesäuerten Lösung von 5 g Ammonsalzen hatte der Äther 2,13 g Oxalsäure entsprechend 3 g Ammonoxalat entzogen. Die aus dem Stammextrakt gewonnenen 10,0 g Ammonsalze bestanden somit aus 6 g Ammonoxalat und 4,0 g anderen Ammonsalzen.

Der Gehalt an Oxalsäure in 1 kg Lactucarium beträgt demnach mehr als 4 g Oxalsäure (6 g Ammonoxalat), da ein Teil des Stammextrakts, der zu den einzelnen Vorproben gedient hatte, der Ausfällung der Säuren als Ammonsalze entgangen war.

Meine pharmazeutische Aufarbeitung hatte also ergeben, daß die Extraktion von Lactucarium mit 50% Methanol nach Abdampfen des Methanols einen wässerigen Stammextrakt von schwach saurer Reaktion (p_H zwischen 3,5 und 4,0) liefert, der praktisch frei von unwirksamem Lactucerin ist, jedoch die beiden Bitterstoffe Lactucin und Lactucopikrin enthält, sowie Pflanzensäuren, von denen eine gewisse Menge Oxalsäure ist. Die Anwesenheit eines mydriatischen Alkaloids in allergeringster Konzentration in diesem Stammextrakt kann als wahrscheinlich, jedoch nicht als sicher bezeichnet werden.

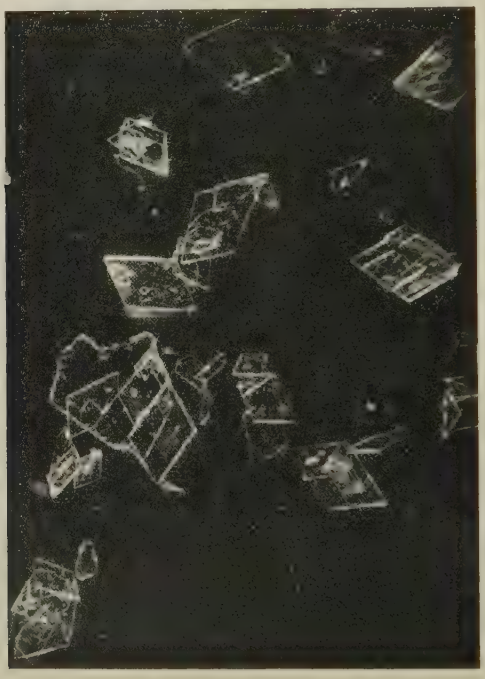


Abb. 2. Lactucin.

Bereitung eines Galenicums.

Schenck und Graf[45] ist es gelungen, auf ziemlich einfache und schonende Weise den frischen Milchsaft des Giftlattichs zu einem Galenicum zu verarbeiten, das die wirksamen Bitterstoffe in hoher Konzentration enthält und dank der Gegenwart kolloidaler Begleitstoffe in Wasser löslich ist.

Der frische Milchsaft, der etwa 70% Wasser enthält, wird dazu möglichst schnell in ein Gefäß gesammelt und entgegen den früheren Ernteverfahren nicht an der Sonne getrocknet, sondern vor Austrocknung und Oxydation geschützt. Nach etwa eintägigem Stehen ist der Milchsaft zu einer käsig-schwammigen Masse koaguliert, aus der sich die flüssigen Anteile durch Absaugen gewinnen lassen. Die flüssige, gelblich gefärbte Phase enthält die Bitterstoffe, in der festen Phase sind die unlöslichen Bestandteile Lactucerin, Kautschuk u. a. vorhanden.

[45] Schenck, G., u. H. Graf: Arch. Pharmaz. **274**, 537—542 (1936).

Der flüssige Anteil wird nach dem Absaugen mit Wasser gewaschen und im Straubschen Zerstäubungsapparat bei 2 mm Hg zur Trockne eingedampft, wobei ein gelbes nicht hygroskopisches Trockenpulver zurückbleibt, das sich in Wasser wieder klar löst. („Wasserlöslicher Anteil" = W. A.)

Aus 50 g Trockenpulver entsprechend 500 g frischem Milchsaft ließen sich bisher 3,62 g Lactucin isolieren, das sind 7,2% [46]; Lactucopikrin ist darin zu 1,84% enthalten [47].

Quantitative Bestimmungen auf dem Wege der Geschmacksanalyse rechtfertigen jedoch die Annahme, daß der Gesamtgehalt an Bitterstoffen im Trockenpulver noch wesentlich höher ist [48].

Pharmakologische Untersuchungen.

Diese befassen sich mit der Beobachtung der Allgemeinwirkung in Verbindung mit der Bestimmung der Toxizität von Originallactucarium, vom „wasserlöslichen Anteil" des frischen Milchsaftes verschiedener Ernten, vom alkohollöslichen Anteil (Latucyl) und der Toxizität der kristallisierten Bitterstoffe Lactucin und Lactucopikrin. Sodann wurde die Wirkung der Bitterstoffe Lactucin und Lactucopikrin auf Atmung und Kreislauf ermittelt und in einigen orientierenden Versuchen ihr Einfluß auf den Darm geprüft. Sehr eingehend wurde der Frage nach einer etwaigen diuresefördernden Wirkung dieser Substanz nachgegangen und endlich die sedative Wirkung der Reinsubstanzen und der Galenica mittels einer besonderen Methode gemessen.

Bestimmung der Toxizität.

Die Bestimmung der Toxizität wurde jeweils an mehreren Tieren durchgeführt. Im Bereiche der Streuung wurden meist 5—9 Tiere herangezogen.

Frosch: Vom wasserlöslichen Anteil in 10%iger Lösung werden bei Injektion in den Brustlymphsack 0,5 mg/g vertragen; 0,8 mg/g sind tödlich. Meist wurde Rückenlage beibehalten.

Toxizität des wasserlöslichen Anteils des frischen Milchsaftes für Mäuse bei fortlaufender Eingabe per os.

6 Mäuse erhielten vom 1.—5., 9.—13., 15.—20. Tage je 0,5 mg/g des wasserlöslichen Anteils per os. 1 Tier starb am 8. Tage. Die übrigen Tiere blieben vollkommen gesund. Ihr Gewicht wurde noch bis zum 26. Tage nachgeprüft; es blieb unverändert.

Toxizität des wasserlöslichen Anteils des frischen Milchsaftes für Kaninchen.

Für Kaninchen betrug die tödliche Dosis des wasserlöslichen Anteils in 10%iger Lösung bei intravenöser Injektion 0,22 g/kg. Subcutan wurden 0,2 g/kg stets ver-

---

[46] Späth, E., G. Schenck u. W. Schreber: Arch. Pharmaz. **277**, 203—206 (1939). — [47] Schenck, G., H. Graf u. W. Schreber: Ebenda **277**, 137—145 (1939). — [48] Schenck, G., u. H. Graf: Ebenda **277**, 257—261 (1939).

Tabelle 1. Toxizität einiger galenischer Zubereitungen an der Maus in mg/g.

Galenicum	Konzentration und Vehikel	per os		subcutan	
		Dos. tol.	Dos. let. min.	Dos. tol.	Dos. let. min.
Lactucarium des Handelns	2,5% und 5% Suspension in Oliven- oder Paraffinöl	2,5	–	1,25	2,5
Lactucarium nach Entfernung von 33% Gummi arabicum	5% und 10% Suspension in 20% Gummi arabic.	2,5	5,0		
Lactucarium „selbst gesammelt", gesiebt	10% Suspension in Wasser	3,0	4,0	–	–
Frischer Milchsaft	10% Emulsion nach D. A. B. 6	–	–	1,5	2,5
Original Preßsaft (10 g = 1 g getrockneter Milchsaft = 2,5 g Lactucarium)	20% in Wasser gelöst	–	–	0,4	0,5
Wasserlöslicher Anteil (101)	1% und 10% Lösung in Wasser	3,0	4,0	0,3	0,4
Wasserlöslicher Anteil von Oxalsäure befreit	1% Suspension in Wasser	4,0	5,0	–	–
Wasserlöslich. Anteil 1937 C	1% und 10% Lösung in Wasser	3,0	4,0–5,0	–	–
Wasserlöslich. Anteil 1938 E	10% coll. Lösung in Wasser	2,0	2,5	–	–
Latucyl 25%	25% Lösg. in 25% Äthanol + 5% p-oxybenzoesaures NH_3	2,0	3,0	–	–
Latucyl 50%	Dasselbe	–	2,0–3,0	–	–
Latucyl 25%	25% Lösg. in 25% Äthanol + 5% salicylsaures NH_3	–	2,0	–	–

tragen, mitunter auch 0,3 g/kg. Ein Teil der Tiere ging jedoch nach 0,25 g/kg im Laufe der folgenden Nacht ein. Bei Eingabe per os erwies sich der wasserlösliche Anteil als sehr wenig toxisch. Alle Tiere überlebten 5 g/kg, während 7,5 g/kg stets tödlich war.

Toxizität der reinen Bitterstoffe Lactucin und Lactucopikrin.

Frosch: Vom reinen Lactucin in 0,1%iger Lösung wurden bei Injektion in den Brustlymphsack 0,1 mg/g ertragen; 0,15 mg/g war tödlich. Die kleinste wirksame Dosis beträgt 0,0015 mg/g. Von dieser Dosis ab erfolgt der Fluchtversuch erst nach mehrmaligem Reiz. Die tödlichen Dosen führten häufig zu ödematösen Schwellungen an der Bauchseite.

Toxizität von Lactucopikrin für Kaninchen.

Anläßlich der Blutdruckversuche wurden Dosen von 100–200 mg/kg Lactucopikrin in verschiedenen Lösungsmitteln intravenös gegeben. Aus dem Verhalten des Blutdrucks darf geschlossen werden, daß die Tiere, die nach der Operation getötet wurden, diese Dosis glatt überlebt hätten.

Tabelle 2. Toxizität der Bitterstoffe.

I. Mäuse.

	Art der Beibringung	Konzentration und Vehikel	Dosis in mg/g	lebt	tot	Bemerkung
Lactucin	per os	2% Suspension in 20% Gummi arabicum	0,5 —0,7	6	—	
			0,75—0,8	8	7	Nach einigen Stunden unsicherer Gang. Tod nach 4—6½ Stunden
			0,9 —1,0	—	6	
	subcutan	0,1% Lösung in Wasser	0,02	5	—	Ödeme an den Vorderbeinen. Hyperämie des Schwanzes
			0,025—0,003	9	4	
			0,05	—	3	
	intravenös	0,1% Lösung in Wasser	0,01	4	—	
			0,015	—	4	
Lactucopikrin	per os	1—4% Lösung in H_2O als Na-Salz	0,5 — 2,5	35	—	
		1—20% Suspension des freien Lactucopikrins in H_2O	0,5 — 0,6	15	—	
			0,75—20,0	5	30	Seitenlage, Cyanose an Augen und Schwanz
		2—10% Suspension des freien Lactucopikrins in 20% Gummi arabicum	0,5 — 2,5	8	—	Zusatz von Gummi arabicum vermindert die Toxizität durch Resorptionshemmung
			5,0 —11,3	9	2	
	subcutan	0,5—4,0% Lsg. in H_2O als Na-Salz	0,05— 1,75	22	—	
			2,0 — 2,5	7	6	
			3,0 — 4,0	—	8	
	intravenös	4% Lösung in H_2O als Na-Salz	0,5	3	—	
			0,75— 1,5	7	3	

II. Kaninchen.

	Art der Beibringung	Konzentration und Vehikel	Dosis in mg/kg	lebt	tot	Bemerkung
Lactucin	subcutan	1—4% Lösung in 10—30% p-oxybenzoesaurem Natrium	65—175	7	—	
			200—500	—	4	
	intravenös	20% CH_3OH oder 30% p-oxybenzoesaures Na oder CH_3OH, Propylenglykol, Wasser	20— 65	5	—	Tod durch Atemlähmung. Herz schlägt noch 2—4 Min. weiter
			75	4	3	
			100—140	3	6	

Allgemeines Wirkungsbild.

Bei Fröschen bewirkt das Lactucin schon in Dosen von 0,015 mg/g ab eine deutliche Beruhigung der Tiere ohne vorangehende Erregung. Nach etwa ½ Stunde ist der Fluchtversuch gehemmt. Erst auf mehrmaligen Reiz hin springen die Tiere mit normal durchgeführtem Sprunge weg. Bei Steigerung der Dosis wird sehr bald Rückenlage ertragen, bei toxischen

Dosen mitunter schon nach 10 Minuten. Der Tod tritt im Laufe von 4–48 Stunden ein. Einige der Tiere zeigten am 2. Tage Streckkrämpfe mäßigen Grades. Das Herz stand stets in Systole still. Die Wirkung des frischen Milchsaftes oder des daraus abgeschiedenen wasserlöslichen Anteils war sehr ähnlich. Lediglich der Herzstillstand erfolgte bei den galenischen Zubereitungen meistens ins Diastole. Sehr häufig führten das Lactucin und in Einzelfällen auch die galenischen Zubereitungen zu ödematösen Wasseransammlungen am Bauche, die im Verlaufe von Tagen wieder verschwanden.

Bei Mäusen ist das Wirkungsbild für die reinen Bitterstoffe und die galenischen Zubereitungen grundsätzlich gleich. Nach der Beibringung der Substanzen bleiben die Tiere zunächst lange Zeit sitzen und nehmen eine dösige Schlafstellung ein, wobei der Kopf häufig zwischen den Vorderbeinen vergraben wird, ähnlich wie man es bei schlafenden Hunden sieht. Dieser schläfrige Zustand, der jederzeit gestört werden kann, bleibt oft stundenlang unverändert bestehen. Auch am nächsten Tage macht sich die Schläfrigkeit häufig noch bemerkbar. Nach tödlichen Dosen tritt die zentrale Lähmung deutlicher zum Vorschein. Die Tiere zeigen unsicheren Gang, nehmen zunächst Bauchlage, später Seitenlage ein. Nach 1 bis 2 Stunden tritt Reflexlosigkeit auf. Die reflektorische Erregbarkeit ist auch bei Mäusen am zweiten Tage oft gesteigert, was in kurzdauernden, klonischen Krämpfen zum Ausdruck kommt. Häufig ist eine erhöhte Sekretion der Bindehäute zu beobachten und eine über Stunden anhaltende Hyperämie des Schwanzes. Die Bitterstoffe besitzen vermutlich auch einen Angriffspunkt an einer periferen Stelle des vegetativen Nervensystems, worüber jedoch erst eingehende Untersuchungen Aufklärung schaffen können.

Wirkung auf die Atmung.

Geprüft wurde die Wirkung der beiden Bitterstoffe auf die Atmung von Kaninchen mittels Nasenkanüle und Mareykapsel.

Das Lactucin wurde zunächst in den erträglichen Dosen 50–125 mg/kg intravenös beigebracht. Als Lösungsmittel dienten 16% Mannit, 20% Methanol sowie wässerige Mischungen von Methanol und 1, 2-Propylenglykol zu je 10%. Im Bereich der obigen Lactucindosen erlitt die Atmung keinerlei Beeinträchtigung. Die intravenöse Injektion höherer Dosen von 140, 500, 750 mg/kg Lactucin gelöst in 20—30% Natriumsalicylat oder in Methanol-Propylenglykol-Wassergemischen führte durchschnittlich im Laufe von $1^1/_2$—$2^1/_2$ Stunden zum Tode. Dabei machten sich Anzeichen der Atmungsherabsetzung erst in den letzten 10 Minuten vor dem Tode bemerkbar.

Wirkung auf den Blutdruck.

Die Einwirkung des wasserlöslichen Anteils des frischen Milchsaftes sowie der reinen Bitterstoffe auf den Blutdruck wurde an Kaninchen und Katzen in Urethannarkose geprüft.

Der wasserlösliche Anteil konnte beim Kaninchen zu 150 mg/kg intravenös gegeben werden, ohne den Blutdruck zu ändern; 200 mg/kg führten zu kurzdauernder Steigerung ohne nachfolgende Senkung.

Für die Beibringung der Bitterstoffe in höheren Dosen war auch hier die Auffindung geeigneter Lösungsmittel Voraussetzung. Als brauchbar und für den Blutdruck indifferent erwiesen sich Mischungen von Methanol (15—25%) mit 1, 2-Propylenglykol (10—25%) in Wasser, sowie 15%iges Natriumsalicylat oder 15%iges p-oxybenzoesaures Natrium. (Nicht verwendbar waren 50%iger Glykoläther, 50%iges Dioxan, 30%iges Diäthylin.)

Lactucin zu 100 mg/kg ließ sowohl bei einmaliger intravenöser Injektion als auch bei langsamer intravenöser Infusion den Blutdruck beim Kaninchen vollkommen unverändert.

Bei der Katze hatten 25 mg/kg Lactucin intravenös in gesättigter wässeriger Lösung keinen Einfluß auf den normalen Blutdruck.

Das Lactucopikrin hatte als Natriumsalz intravenös beigebracht zu 100—200 mg/kg in wässeriger Lösung ebenfalls keine Einwirkung auf den Blutdruck des Kaninchens. Ebenso ließ die intravenöse Injektion des freien Lactucopikrins zu 150 mg/kg, wobei für die Lösung dieser Gesamtmenge verschiedene Lösungsmittel herangezogen werden mußten, den Blutdruck unbehelligt. Gleiches war bei der intramuskulären Injektion von 200 mg/kg Lactucopikrin (in 50%igem 1, 2-Propylenglykol) der Fall. An der Katze bewirkte die intravenöse Gabe von 40 ccm gesättigter wässeriger Lösung von Lactucopikrin eine mäßige Steigerung des vorher niedrigen Blutdrucks.

Einwirkung auf den motorischen Nerven.

Nach Skworzoff[49] hatte ein nicht näher gekennzeichneter Lactucaextrakt bei parenteraler Gabe — jedoch nicht bei Darreichung per os — beim Frosche eine absteigende Lähmung der motorischen Innervation zur Folge. Aus diesem Grunde wurde der wasserlösliche Anteil auf eine etwaige Beeinflussung der motorischen Innervation am Frosch geprüft.

Zunächst wurden an Eskulenten die normalen Schwellenwerte für die Auslösung der Schließungszuckung durch faradische Reizung der Muskulatur vom bloßgelegten Nervus ischiadicus aus festgestellt. Sodann erhielt ein Eskulent von 50 g um 11 Uhr 0,5 ccm der 10%igen Lösung des wasserlöslichen Anteils entsprechend 1 mg/g Trockensubstanz, somit die doppelte tödliche Dosis in den Brustlymphsack. Das Tier ertrug um 15.10 Uhr (wahrscheinlich schon früher) Rückenlage und starb um 15.30 Uhr. Gegenüber gleichen oder leicht überschwelligen Reizen blieb bis zum Tode die Erregbarkeit des Nerven unverändert erhalten. Ein zweiter Eskulent von

[49] Skworzoff: Arb. a. d. Pharmakol. Inst. zu Moskau. Herausgeg. von A. Sokolowski **1**, 167—197, Moskau 1876.

etwa 50 g Gewicht erhielt um 9.45 Uhr die 4fach tödliche Dosis der gleichen Substanz (2 mg/g) in den Brustlymphsack. Der Frosch ertrug von 10.30 Uhr an Rückenlage, und starb um 12.00 Uhr. Auch hier ergab die zwischen 10.30 Uhr und 12.00 Uhr wiederholt vorgenommene Prüfung der Erregbarkeit vom Nerven aus keinerlei Veränderung der Reizschwelle.

Der wasserlösliche Anteil des Milchsaftes ist demnach auch in tödlichen Dosen ohne jeden Einfluß auf die periphere motorische Innervation und auf die Skeletmuskulatur selbst. Die Ergebnisse von Skworzoff sind wohl auf einen hohen Gehalt seines Extraktes an Kalium und Magnesium zurückzuführen (vgl. S. 4).

Einwirkung auf den Darm.

Mittels der Methode von Straub [50] am Meerschweinchendarm in situ wurde in einigen orientierenden Versuchen Aufklärung über eine etwaige Wirkung von Lactucin auf den Darm gesucht. Bei intravenöser Zufuhr waren 0,006 mg/g Lactucin in wässeriger Lösung ohne den geringsten Einfluß auf die Tätigkeit des Dünndarms bei einem Füllungsdruck von 6 ccm Wasser. Ebenso blieben 0,015 mg/g bei dem Füllungsdruck von 7,5 ccm Wasser vollkommen wirkungslos. Auch die Tätigkeit des Dickdarms erfuhr durch 0,01 mg/g bei 9,0 ccm Wasserdruck keinerlei Veränderung. Die eingehende Prüfung der Darmwirkung der Bitterstoffe bleibt vorbehalten.

Einwirkung des wasserlöslichen Anteils des Milchsaftes und der Bitterstoffe auf die Diurese.

Collin [51] und nach ihm zahlreiche andere haben Extrakte der Lactuca als Entwässerungsmittel herangezogen. Es lag daher nahe, den wasserlöslichen Anteil des Milchsaftes sowie die reinen Bitterstoffe auf den Einfluß zu untersuchen, den sie auf die normale Diurese ausüben.

Die Prüfung erfolgte nach dem Vorschlage von Burn [52] an Ratten. Zu jedem Versuche dienten 2 Gruppen von je 4 Tieren, die um 16.00 Uhr des Vortages auf Hunger gesetzt wurden. Am Versuchstage erfolgte die Bestimmung der normalen Harnausscheidung nach Eingabe von 0,05 ccm/g Wasser oder des jeweiligen Lösungsmittels per os. Der Versuch begann stets um 9.00 Uhr morgens. Die Ablesung der Harnmenge pro Tiergruppe erfolgte nach $1^1/_2$, $2^1/_2$, $3^1/_2$ und $6^1/_2$ Stunden nach Verabfolgung der Flüssigkeit. Einige Tage später wurde in genau entsprechender Weise an den gleichen Tiergruppen die Harnausscheidung nach Beibringung des Wirkstoffs unter Beibehaltung stets gleicher Volumenmengen gemessen. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle und in Abb. 3 zusammengestellt.

[50] Straub, W., u. P. Viaud: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 1 (1933). — [51] Collin, H. J.: Lactucae sylvestris contra hydropem vires. Observationes circa morbos acutos et chronicos VI, S. 14, Wien 1780. — [52] Burn, J. H.: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin 1937.

Die Zahlen in der letzten Spalte geben die nach $1^1/_2-6^1/_2$ Stunden abgelesenen Harnmengen, sowie die gesamte Harnmenge an. Alle Volumina sind in ccm ausgedrückt.

Tabelle 3. Wirkung des wasserlöslichen Anteils (W. A.) des frischen Milchsaftes auf die Diurese von Ratten nach Eingabe per os.

Gruppe Nr.	Verabfolgter W. A. in mg/g	Eingegebene Menge H_2O bzw. wässerige Lösung vom W. A.	Harnmenge nach Wasser in ccm Harnmenge nach W. A. in ccm
12	—	28,7	11,0 + 9,5 + 2,5 + 1,0 = 24,0
	0,001	29,05	10,0 + 11,8 + 2,0 + 0,9 = 24,7
11	—	27,6	12,5 + 7,3 + 1,0 + 0,5 = 21,3
	0,001	27,8	18,0 + 6,0 + 1,5 + 1,5 = 27,0
10	—	31,4	5,0 + 15,0 + 2,0 + 1,9 = 23,9
	0,01	30,4	10,0 + 12,5 + 2,9 + 1,5 = 26,9
9	—	31,0	4,0 + 17,0 + 0,9 + 3,0 = 24,9
	0,01	30,3	13,0 + 9,9 + 0,3 + 2,8 = 26,0
8	—	36,1	12,8 + 10,0 + 1,2 + 2,7 = 26,7
	0,01	36,0	4,0 + 13,8 + 5,0 + 2,8 = 25,6
7	—	33,8	8,9 + 10,8 + 2,2 + 3,0 = 24,9
	0,1	33,5	1,0 + 12,0 + 5,0 + 1,5 = 19,5
6	—	36,25	10,5 + 10,0 + 4,5 + 5,5 = 30,5
	0,5	37,2	3,0 + 9,0 + 4,2 + 1,0 = 17,2
5	—	38,0	19,5 + 9,0 + 0,8 + 4,5 = 33,8
	1,0	39,3	1,0 + 6,5 + 2,0 + 2,8 = 13,3
4	—	35,9	22,5 + 11,0 + 2,7 + 3,0 = 39,2
	1,0	36,0	0,8 + 4,0 + 2,0 + 2,5 = 9,2
2	—	38,2	3,0 + 10,0 + 4,2 + 2,0 = 19,2
	2,0	39,0	14,5 + 2,0 + 1,8 + 0,3 = 18,6*
1	—	34,7	8,7 + 7,8 + 4,0 + 2,5 = 23,0
	2,0	36,2	14,0 + 0,5 + 0,3 + 0,2 = 15,0*
3	—	32,6	18,0 + 6,0 + 1,0 + 2,5 = 27,5
	3,0	33,1	16,0 + 4,5 + 1,0 + 0,2 = 21,7*

* Bei den Tieren 2, 1 und 3 sind die Harnwerte wegen diarrhoischer Beimengungen ungenau.

Aus der Tabelle 3 geht hervor, daß der wasserlösliche Anteil des frischen Milchsaftes die Harnausscheidung nicht fördert. In Dosen von 0,1 mg/g aufwärts bewirkt er dagegen eindeutige Hemmung der Diurese. Zusätzliche Injektion von 0,025 ccm einer 0,2%igen NaCl-Lösung subcutan ändert an dem Einfluß der Giftlattichwirkung auf die Harnausscheidung nichts.

Die Messung der Diurese läßt sich wahrscheinlich zu einem einfachen Verfahren für die Messung des Bitterstoffgehalts im Milchsaft entwickeln. Es wäre dabei die kleinste Dosis als kritische zu wählen, die eine Hemmung der Harnausscheidung zur Folge hat. Wie aus der folgenden Abbildung hervorgeht, ist die Diuresehemmung auf die Wirkung beider Bitterstoffe zurückzuführen.

Wirkung der Bitterstoffe auf die Diurese.

In einigen Vorversuchen wurde der Einfluß von Formamid in 50%iger Lösung. subcutan, injiziert auf die Diurese geprüft, um die Eignung dieser Lösung als Lösungsmittel für Lactucin kennenzulernen. In der Dosis 0,01 ccm/g wirkte die 50%ige Formamidlösung jedoch toxisch und setzte die Diurese etwas herab.

Als Lösungsmittel für Lactucin, besonders in höheren Dosen, wurde deshalb auch hier ein Gemisch von 10 ccm Methanol + 10 ccm 1, 2-Propylenglykol + 80 ccm Wasser gewählt. Die normale Diurese wurde nach Injektion dieses Lösungsmittels allein bestimmt, wobei sich die Unwirksamkeit des Lösungsmittels auf die Diurese offenbarte.

Alle Tiere erhielten zusätzlich 0,025 ccm/g einer 0,2%igen NaCl-Lösung subcutan. Die mit dem Kochsalz zugeführte Flüssigkeitsmenge war pro Gruppe von 4 Ratten nahezu konstant (um 15 ccm).

Das Verhalten der Harnausscheidung ist in Abb. 3 dargestellt. Aus den Normalwerten, die von jeweils 2 Tiergruppen stammten, wurde das Mittel genommen, gleich 100 gesetzt und das Mittel aus den Werten der gleichen Tiergruppen nach Bitterstoffgabe im Verhältnis dazu angegeben.

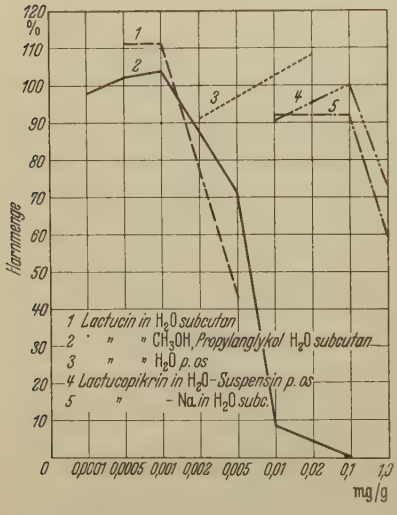


Abb. 3.

Die Abbildung läßt erkennen, daß Lactucin subcutan beigebracht in dem gewählten Lösungsmittel oder in Wasser gelöst, keine Förderung der Harnausscheidung bewirkt. Vielmehr entfaltet es in Dosen von etwa 0,005 mg/g aufwärts einen hemmenden Einfluß auf die Diurese. Es ist anzunehmen, daß auch die 10fache Lactucinmenge (0,05 mg/g) per os gegeben ebenfalls die Diurese hemmt. Die kleineren Dosen von 0,02 mg/g und weniger sind auch per os ohne jeden Einfluß auf die Harnausscheidung. Ebenso hat Lactucopikrin in freier Form oder als Natriumsalz keine Diureseverstärkung zur Folge. In Mengen von 1 mg/g als freies Lactucopikrin per os oder in Form von Natriumsalz subcutan bewirkt es Hemmung der Harnausscheidung.

Die gesamten Diureseversuche sowohl mit dem wasserlöslichen Anteil des frischen Milchsaftes wie auch mit den reinen Bitterstoffen Lactucin und Lactucopikrin haben ergeben, daß bei verschiedenartiger Zufuhr eine Förderung der Harnausscheidung niemals auftritt. Alle geprüften Substanzen zeigten dagegen in hohen Dosen stets eine ausgesprochene Diurese-hemmung.

Sedative Wirkung.

Die ersten Versuche zur grundsätzlichen Entscheidung der Frage, ob dem Lactucarium und seinen Inhaltsstoffen überhaupt eine sedative Wirkung zukommt, wurden ausgeführt mittels einer einfachen Methode zur Wiedergabe des spontanen Bewegungsdranges, die darin bestand, daß

Mäuse auf eine berußte Unterlage gesetzt wurden, auf der sie sich frei umherbewegen konnten. Die Laufspuren im Ruß ermöglichten Unterschiede in der Motilität der Tiere zu erkennen (vgl. Forst[53, 54], v. Werz[55]). An Hand dieser Methode kam die Eigenschaft des Lactucariums und einzelner Inhaltsstoffe sedativ zu wirken, eindeutig zum Vorschein.

Als Gradmesser zur Erkennung feinerer Unterschiede in der Stärke der sedativen Wirkung erschien mir die Methode jedoch ungeeignet. Die Fortsetzung der Versuche erfolgte daher mit der von Kochmann und Kunz[56] ausgearbeiteten Methode, die die Bewegungen von Kaninchen im Schwebekäfig quantitativ registriert.

Zunächst bestimmte ich nach dieser Methode die Beweglichkeitswerte normaler Tiere zu verschiedenen Zeiten, errechnete den Mittelwert und stellte die Änderung der Beweglichkeit nach Verabfolgung der einzelnen Lattichzubereitungen fest.

Tabelle 4. Bestimmung der sedativen Wirkung des wasserlöslichen Anteiles des frischen Milchsaftes (W. A.) per os an Kaninchen.

A. 0,5 g/kg W. A. I B. 1,0 g/kg W. A. I	Zahl der Tiere	A			Zahl der Tiere	B		
		1–3 h	1–6 h	1–9 h		1–3 h	1–6 h	1–9 h
Mittel der Normalwerte ..	6	24	39	57	2	20	35	48
Mittel der Lattichwerte ..	6	8	16	28	2	8	18	21
Herabsetzung der Beweglichkeit in %		66	59	51		60	49	52

C. 2,0 g/kg W. A. II D. 3,0 g/kg W. A. II	Zahl der Tiere	C			Zahl der Tiere	D		
		1–3 h	1–6 h	1–9 h		1–3 h	1–6 h	1–9 h
Mittel der Normalwerte ..	3	29	48	61	3	27	42	59
Mittel der Lattichwerte ..	3	8	15	22		8	15	21
Herabsetzung der Beweglichkeit in %		72	69	64		70	64	64

Wie die Tabelle 4 zeigt, bewirken die beiden geprüften W.A.-Zubereitungen eine starke Herabsetzung der Motilität. Abänderungen in der Dosierung kommen jedoch zahlenmäßig nicht genügend zum Ausdruck. Dies wurde nun dadurch zu erreichen versucht, daß gemäß Kochmanns Vorgehen der antagonistische Effekt des Lattichs gegenüber Erregungsmitteln bestimmt wurde.

Als Erregungsmittel wurden geprüft:

Coffein pur. in 20% G. arabicum zu 18, 25, 50 mg/kg subcutan.
Coffein pur. in 20% G. arabicum zu 100 mg/kg und 200 mg/kg per os.
Coffein-Natrium benzoicum zu 250 mg/kg subcutan.
Theophyllin-Natrium salicylicum zu 20, 36, 40, 54 mg/kg subcutan.

[53] Forst, A. W.: Münch. med. Wschr. **84**, 1251–1254 (1937). — [54] Forst, A. W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 288–297 (1938). — [55] v. Werz, R., u. R. Verleger: Ebenda **192**, 292–299 (1939). — [56] Kochmann, M., u. H. Kunz: Ebenda **181**, 421–434 (1936).

Coffein pur. zu 10, 20 mg/kg + Theophyllin-Na-salicylicum zu 20, 40 mg/kg subcutan.

Apomorphin hydrochloricum zu 2,0, 2,5, 3,5 mg/kg subcutan.

Apomorphin hydrochloricum zu 5, 10 mg/kg per os.

Cardiazol 5—60 mg/kg subcutan.

Kaffee als Infus 10% nach D. A. B. 6 zu 1,75—15 g/kg per os.

Tee-Infus 5% und 10% nach D. A. B. 6 zu 30 ccm/kg per os.

Am besten geeignet als Erregungsmittel erwies sich das Coffein. pur. in der von Kochmann (l. c.) ermittelten Dosis von 18 mg/kg subcutan, sowie der 5%ige Teeinfus in der Menge von 30 ccm/kg. Nach höheren Coffeindosen schlug die Wirkung ins Gegenteil um; die Motilität war gegenüber der Norm abgeschwächt.

Tabelle 5. Erregung durch 18 mg/kg Coffein. pur. in 20% G. arab. subcutan an Kaninchen.

A. Mittelwerte von 6 Tieren				B. Mittelwerte von 11 Tieren			
	$1-3^h$	$1-6^h$	$1-9^h$		$1-3^h$	$1-6^h$	$1-9^h$
Normal	30	42	56	Normal	18	30	42
Coffein	59	76	95	Coffein	37	51	69
Erregungsfaktor ..	1,97	1,81	1,70	Erregungsfaktor	2,06	1,70	1,64

Die Werte von A wurden an einer Versuchsreihe von 6 Tieren planmäßig bestimmt. Die Werte von B sind die Gesamtheit aller einschlägigen Coffeinversuche, die aus der großen Zahl der im Laufe der Untersuchung angefallenen Protokolle herausgezogen wurden. Es fällt auf, wie gut die Mittelwerte der Erregung durch Coffein bei beiden Gruppen übereinstimmen.

Der Erregungsfaktor für die Erregung, die durch 30 ccm/kg 5%igen Teeinfus per os veranlaßt wird, ist von gleicher Größenordnung (vgl. Tabelle 6). Die Wirksamkeit des Teeinfuses hält jedoch länger an.

Tabelle 6. Erregung durch 5%iges Infus von schwarzem Tee per os an Kaninchen. Dosis: 30 ccm/kg.

Mittelwerte von 9 Tieren			
	$1-3^h$	$1-6^h$	$1-9^h$
Normal	33	53	75
Teeinfus	68	116	176
Erregungsfaktor	2,06	2,19	2,35

Um festzustellen, inwieweit der Lattich die zentrale Erregung herabzusetzen vermag, wurde gleichzeitig Teeinfus und wasserlöslicher Anteil des frischen Milchsaftes innerlich gegeben. Das Ergebnis wird aus Tabelle 7 ersichtlich.

Die Dämpfung der Tee-Erregung wurde dann als Test gewählt zum Vergleich der Wirkungsstärke zweier Proben des wasserlöslichen Anteils des frischen Milchsaftes (Tabelle 8).

Tabelle 7. Erregung nach 30,0 ccm/kg 5%igem Teeinfus; Dämpfung durch 1,5 g/kg W. A. per os.

Mittelwerte von 2 Tieren			
	1–3^h	1–6^h	1–9^h
Normal	35,5	59,5	86,5
Teeinfus	78,5	137,5	225,5
Tee + W. A. 101	48,5	79,0	114,0
Erregung	43	78	139,0
Herabsetzung d. Erregung (absoluter Wert)	30	58,5	111,5
Herabsetzung d. Erregung in %	69,7	75,0	80,2

Tabelle 8. Herabsetzung der mittels Teeinfus erzielten Erregung durch die wasserlöslichen Anteile (W. A.) der Ernten 1936 und 1937 an Kaninchen per os.

Mittelwerte von 5 Tieren			
	1–3^h	1–6^h	1–9^h
Normal	37,2	60,2	84,6
Tee allein	76,6	131,8	202,2
Erregung durch Tee	39,4	71,6	117,6
Tee + W. A. 1936	45,0	69,2	129,6
Herabsetzung der Erregung durch W. A. 1936 (absoluter Wert)	31,6	62,6	72,6
Herabsetzung der Erregung in %	80,2	87,4	61,7
Tee + W. A. 1937	39,2	83,2	129,0
Herabsetzung der Erregung durch W. A. 1937 (absoluter Wert)	37,4	48,6	73,2
Herabsetzung der Erregung in %	94,9	67,8	62,2

Die Methode von Kochmann und Kunz (l. c.) wurde auch herangezogen, um die Reinsubstanz Lactucin zu prüfen. Die Lösung des Bitterstoffs erfolgte in 10—30%igem p-oxybenzoesaurem Natrium, da die Lösung dieses Salzes von allen brauchbaren Lösungsmitteln die geringste hypnotische Eigenwirkung entfaltete. Das Lactucin wurde zunächst 7 Kaninchen zu 65—75 mg/kg intravenös und zu 65—100 mg/kg subcutan beigebracht. Bei 6 Tieren entfaltete es einen sedativen Einfluß, 1 Tier reagierte mit Erregung. In einigen weiteren orientierenden Versuchen setzte das Lactucin zu 75 mg/kg intravenös sowie zu 0,5 g/kg per os die durch Kaffee oder Tee hervorgerufene Erregung herab.

Prüfung der sedativen Wirkung an Mäusen.

Aus den Versuchen an Kaninchen geht hervor, daß der wasserlösliche Anteil des frischen Giftlattichmilchsaftes einen sedativen Einfluß ausübt. Dieser ist so stark, daß die durch Kaffee oder Tee erzielbare Bewegungs-

zunahme herabgesetzt wird. Gleiches gelingt mit dem reinen Bitterstoff Lactucin.

Um nun einen Vergleich der Wirkungsstärke der wasserlöslichen Anteile des Giftlattichsaftes verschiedener Ernten und von Pflanzen verschiedener Herkunft zu dem Zwecke der Herstellung einer standardisierbaren Zubereitung vornehmen zu können, mußte auf eine andere,

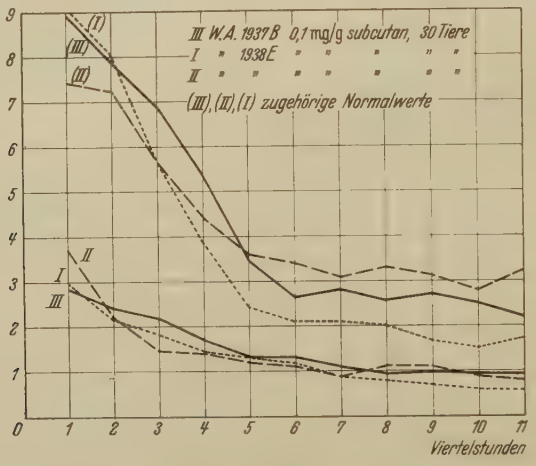


Abb. 4.

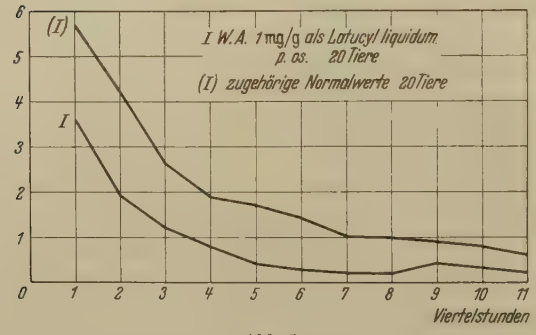


Abb. 5.

kleinere Tierart übergegangen werden. Die Labilität der spontanen Beweglichkeit der einzelnen Tiere zwingt bei der quantitativen Messung sedativer Wirkungseinflüsse zur Heranziehung einer größeren Anzahl von Tieren, was bei der Verwendung von Kaninchen praktisch nur schwer durchführbar ist.

Ich habe deshalb eine neue Methode der Motilitätsmessung ausgearbeitet, mittels der die gestellte Aufgabe gelöst werden konnte. Das Verfahren erfaßt die Lauftätigkeit von Mäusen, die sich auf einem Metallkippteller von 25 cm Durchmesser vollkommen frei umherbewegen können. Die Bewegungen des Kipptellers lösen Stromschlüsse aus, deren Zahl und

zeitliche Aufeinanderfolge elektromagnetisch registriert werden. Bei Ruhelage des Tieres erfolgt kein Stromschluß. Die ausführliche Beschreibung der Methode findet sich bei Forst[57].

Mit Hilfe dieser Methode, die bisher an weit über 1000 Mäusen erprobt werden konnte, gelangten zahlreiche Einzelfraktionen sowie die reinen Bitterstoffe zu wiederholter Prüfung. Hier seien als Beispiele nur die Kurven abgebildet, die von zwei Proben des wasserlöslichen Anteils von Milchsäften verschiedener Ernten bei subcutaner Injektion erzielt wurden, weiterhin eine Kurve für eine gleichartige per os zugeführte Probe. Die

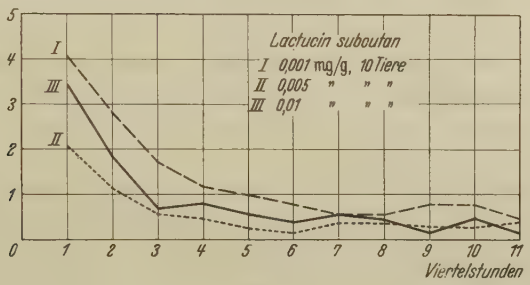


Abb. 6.

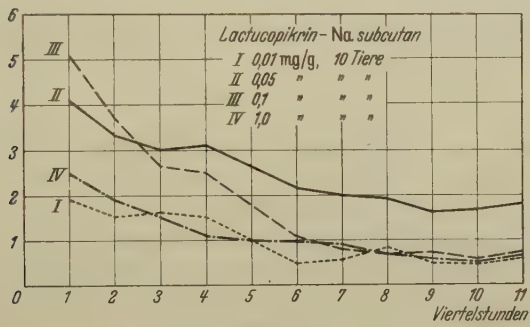


Abb. 7.

Kurven für die reinen Bitterstoffe in verschiedener Dosierung sind auf einer weiteren Abbildung zusammengestellt.

Aus Abb. 4 geht hervor, daß die Streckenzüge für den Mittelwert von je 30 Tieren für W. A. 1937 B und W. A. 1938 E in der Dosis 0,1 mg/g bei subcutaner Injektion weit unter den entsprechenden Normalkurven liegen. Die beiden Streckenzüge für W. A. 1938 (I u. II) zeigen fast gleichen Verlauf und der Streckenzug für W. A. 1937 (III) deckt sich nahezu mit diesen. Die sedative Wirkung von W. A. 1938 und W. A. 1937 ist somit gleich stark.

Abb. 5 zeigt, daß der wasserlösliche Anteil in der Dosis 1 mg/g auch per os sedative Wirkung entfaltet.

[57] Forst, A. W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 257 (1938).

Die Abb. 6 und 7 zeigen die Wirkung subcutaner Injektion der beiden Bitterstoffe Lactucin und Lactucopikrin, wobei letzteres in der löslichen Form als Natriumsalz angewandt wurde. Aus den Streckenzügen geht eindeutig hervor, daß dem Lactucin die stärkere sedative Wirkung zukommt. Sie ist am ausgeprägtesten bei der Dosis 0,005 mg/g, während Verminderung oder Steigerung der Dosis (0,001 bzw. 0,01) die Wirkung herabsetzen. Beim Lactucopikrin ist die stärkste Wirkung an die Dosis 0,01 mg/g geknüpft. Diese bleibt hinter der stärksten Lactucinwirkung zurück. Der Grad der maximalen Lactucinwirkung läßt sich mittels Lactucopikrin überhaupt nicht erreichen. Steigerung der Lactucopikrindosis hat eine rasche Abnahme der Wirkung zur Folge; ebenso die Herabsetzung der Dosis auf 0,005 mg/g.

Die Wirkung von freiem Lactucopikrin in wässeriger Suspension erwies sich als wesentlich schwächer im Vergleich zu den äquivalenten Mengen der Natriumverbindung. Dies erklärt sich aus der langsameren Resorption des schwer löslichen Lactucopikrins.

Es wurde noch versucht festzustellen, ob eine vorausgeschickte Injektion des wasserlöslichen Anteils die narkotische Grenzkonzentration nachfolgend inhalierten Äthers herabsetzt. Dabei zeigte sich, daß 0,1 bis 0,2 mg/g des wasserlöslichen Anteils die Zeitspanne bis zum Eintritt der Seitenlage in einer Ätherkonzentration 0,1—0,2 : 2500 mitunter abkürzen können. Regelmäßig ließ sich dieser Befund jedoch nicht erheben.

Zusammenfassung.

Der an der Luft eingetrocknete Milchsaft des Giftlattichs Lactuca virosa, das Lactucarium, ist leicht zersetzlich und stellt daher ein sehr unzuverlässig wirkendes Galenicum dar.

Der sofort nach der Ernte unter Luftabschluß gesammelte Milchsaft kann nach der beim Stehen eingetretenen Koagulation in einen wasserlöslichen und wasserunlöslichen Anteil getrennt werden. Die wirksamen Stoffe befinden sich im wasserlöslichen Anteil.

Durch Extraktion des im Handel befindlichen Lactucariums mit 50%igem Methanol und Verjagen des Methanols im Vakuum läßt sich ein wässeriger Stammextrakt bereiten, aus dem mittels organischer Lösungsmittel neben Oxalsäure und unwirksamem Lactucerin zwei wirksame Bitterstoffe, das Lactucin und das Lactucopikrin in reiner kristallisierter Form gewonnen wurden.

Die Bestimmung der Toxizität des wasserlöslichen Anteils aus dem Milchsaft sowie der Bitterstoffe ergibt eine recht geringe Giftigkeit aller dieser Substanzen.

Die Atmung und der Blutdruck werden durch subletale Dosen der geprüften Galenica und der Bitterstoffe in keiner Weise beeinträchtigt.

Die motorische Innervation wird durch die wirksamen Stoffe des Giftlattichs auch in tödlichen Dosen nicht beeinflußt.

Die Darmtätigkeit wird durch die geprüften Stoffe nicht spezifisch beeinflußt.

Die Diurese wird durch die Bitterstoffe sowie durch den gesamten wasserlöslichen Anteil des Milchsaftes nicht angeregt. In höheren Dosen führen alle geprüften Substanzen zu einer ausgesprochenen Hemmung der Harnausscheidung.

Der sedative Einfluß des wasserlöslichen Anteils und der Bitterstoffe wird am Kaninchen nach der Methode von Kochmann und Kunz nachgewiesen. Die durch Coffein oder Teeinfus herbeigeführte Erregung wird durch obige Stoffe stark herabgesetzt.

Der Grad der sedativen Wirkung des wasserlöslichen Anteils aus Milchsäften verschiedener Ernten und die beiden Bitterstoffe werden mittels einer eigenen Methode der Motilitätsmessung an Mäusen vergleichend bestimmt. Der stärkste Grad der sedativen Wirkung kommt dem reinen Bitterstoff Lactucin zu.

Die sedative Wirkung auf das Zentralnervensystem bietet eine ausreichende Erklärung für die von den alten Ärzten so sehr geschätzte Wirkung des Lactucariums gegen Reizhusten. Diese ist mit Sicherheit nur von solchen galenischen Zubereitungen des Giftlattichs zu erwarten, die von den resorptionshemmenden Beistoffen des Milchsaftes, insbesondere vom Kautschuk, befreit sind, jedoch die übrigen lösungsvermittelnden kolloidalen Begleitstoffe noch enthalten, wie dies z. B. im Latucyl der Fall ist.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Sofia.
(Direktor: Prof. Dr. D. P. Orahovats.)

Die Bedeutung der Blutgefäße und des Herzens für die Regulierung des Blutdruckes.

IV. Mitteilung: Azetylcholin. Wirkung auf die Blutgefäße, das Herz und den Blutdruck.

Von

T. Gotsev.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Februar 1940.)

Schon im Jahre 1870 hat Gaehtgens (1) festgestellt, daß das Azetylcholin diastolischen Stillstand des Froschherzens verursacht. Mott und Halliburton (2) haben 1897 eine vorläufige Mitteilung in Royal Society über die Wirkung des Cholins auf den Blutdruck und die Blutgefäße der Extremität und der Niere gemacht. Unter Anwendung des Plethysmographen für die Extremität und des Luftonkometers für die Niere haben sie festgestellt, daß die Lösungen von Cholin keine periphere Dilatation der Blutgefäße hervorrufen und daß das Absinken des Blutdrucks von der Wirkung des Cholins auf das Herz bedingt ist, eine Tatsache, die sie am Froschherzen bemerkten.

Die späteren Untersuchungen anderer Verfasser bestätigen das von Gaehtgens wie auch das von Mott und Halliburton Gefundene nicht. Dale (3) und andere Autoren kamen zu dem Ergebnis, daß das Azetylcholin die Blutgefäße erweitert, und daß die Ursache für das Absinken des Blutdrucks eben in der dilatatorischen Wirkung des Azetylcholins auf die Blutgefäße der Bauchorgane und der Extremitäten liegt. Diese Ansicht ist die vorderhand allgemein vertretene.

In den Arbeiten von Gotsev (4, 5) sowie auch von Gotsev, Lueken und Simmendinger (6) wird an Hand von Tierversuchen dargelegt, daß das Azetylcholin nicht Erweiterung der Blutgefäße der Bauchorgane verursacht, sondern Zusammenziehung derselben, womit zur gleichen Zeit regelmäßig Fallen des Blutdrucks eintritt. Dies letztere rührt von Veränderungen in der Herztätigkeit her. Sowohl beim isolierten Froschherz wie auch bei dem Herzen vom ganzen Tier (Säugetier) verlangsamt und verringert das Azetylcholin die Herztätigkeit. Die Zusammenziehung der Milz wie auch die Zusammenziehung der Blutgefäße der Bauchorgane hält längere Zeit an als die Herabsetzung des Blutdrucks; außerdem wird dieselbe Zusammenziehung auch in denjenigen Fällen beobachtet, in denen das

Azetylcholin einem atropinisierten Tier eingespritzt wird, wo der Blutdruck nicht fällt, sondern steigt. Dies bedeutet, daß die erwähnte Zusammenziehung bis zu einem gewissen Grade eine aktive Reaktion ist und nicht nur eine vom Absinken des Blutdrucks hervorgerufene passive solche. Ferguson, Ivy und Greengard (7) haben gleichzeitig die Veränderungen im Blutdruck und diejenigen im Milzumfang des Hundes untersucht, zu welchem Zweck sie den Plethysmographen verwendeten. Sie haben herausgefunden, daß 1 mg Azetylcholin Zusammenziehung der Milz verursacht. Diese rührt nicht nur von dem gesunkenen Blutdruck her, sondern stellt eine aktive Zusammenziehung dar, denn sie tritt auch in denjenigen Fällen ein, in denen die Einspritzung von Azetylcholin an atropinisiertem Tier vorgenommen wird. Sturm und Dauter (8) haben mit Hilfe des Stufentonosphygmographen die Wirkung des Azetylcholins auf den Blutdruck und die Blutgefäße beim Menschen erforscht. In der Mehrzahl der untersuchten Fälle fehlte jede Gefäßwirkung. Die erwähnten Verfasser vermochten die von anderen Autoren bei Versuchen an Hunden vielfach gefundenen Arteriolenerweiterungen nicht festzustellen. Das Absinken des Blutdrucks, das nach Einspritzen von Azetylcholin erfolgt, erklären sich die Verfasser durch eine negativ-inotrope und -chronotrope Wirkung des Azetylcholins auf das Herz.

Die Untersuchungen in den letzten Jahren zeigten, daß das Azetylcholin ein dem menschlichen Körper durchaus nicht fremder Stoff ist. Es wurde gefunden, daß sich das Azetylcholin an verschiedenen Stellen des Körpers bildet. Die Arbeiten von O. Loewi (9, 10) und Dale (11) wie auch die ihrer Schüler bewiesen, daß die parasympathischen Nervenstränge ihre Wirkung vermittels Ausstrahlung von Azetylcholin und azetylcholinähnlichen Stoffen zeitigen. Loewi führte die Bezeichung „humorale Übertragung" und Dale „chemische Übertragung" der Nervenimpulse ein. Aus diesem Grunde herrscht in der letzten Zeit unter den Forschern bedeutend erhöhtes Interesse für die Wirkung des Azetylcholins.

In der vorliegenden, auf umfangreicheres Versuchsmaterial gestützten Arbeit haben wir uns die Aufgabe gestellt, gleichzeitig die im Zustand der Blutgefäße zweier großer Gefäßgebiete — der Bauchorgane und der Extremitäten — einerseits und im Blutdruck andererseits eintretenden Veränderungen zu erforschen, wie auch das Verhältnis zu untersuchen, das zwischen den Veränderungen besteht, die bei Einspritzung von Azetylcholin in die verschiedenen Teile des Blutgefäßsystems — Venen, Arterien und Aorta — in der Herztätigkeit und im Blutdruck erfolgen.

Die Technik ist dieselbe wie die in den 3 vorigen Mitteilungen beschriebene. Zur Untersuchung gelangten zu gleicher Zeit die in der Blutfüllung der Milz, des Dünndarms, der Nieren und der Extremitäten eintretenden Veränderungen. Für die Erforschung der Veränderungen in den Bauchorganen benutzten wir die Onkographen von Orahovats und Popoff und für die der Extremitäten den Plethysmographen. Der Blut-

druck wird nach der klassischen Methode von Ludwig in eine Arterie - A. carotis oder A. femoralis — registriert. Zur Untersuchung der Herztätigkeit verwendet man den Tonographen.

Die Versuche wurden an 32 Hunden, 2 Schafen und 1 Lamm beiderlei Geschlechts und mittleren Gewichts vorgenommen. Die Mehrzahl der Hunde ist mit Luminalnatrium, ein kleiner Teil von ihnen mit Morphinäther, und die Schafe und das Lamm sind nur mit Äther narkotisiert worden. In allen Fällen verwendeten wir Azetylcholin „Roche" — salzsaures Salz des Essigsäureesters des Cholins in verschiedenen Dosen — von $^1/_{250}$ mg bis 1 cg pro kg Körpergewicht —, eingespritzt in eine oberflächliche Vene (V. jugularis ext., V. femoralis), in eine oberflächliche Arterie (A. femoralis, A. carotis), in die Aorta abdominalis oder in die Aorta thoracica. Die Lösung von Azetylcholin wurde immer frisch hergestellt — unmittelbar vor der Einspritzung wurde eine neue Ampulle der Originalpackung geöffnet. Alle Versuche sind am ganzen Tier ausgeführt worden.

Ergebnisse.

1. Blutdruck.

Zuerst muß hervorgehoben werden, daß die Latenzzeit, das ist die vom Augenblick des Einspritzens der Lösung bis zum Beginn der Blutdrucksenkung verstreichende Zeit, verschieden lang ist, je nach der Stelle, an der das Azetylcholin eingespritzt wurde. Bei intravenöser Verabfolgung ist die Latenzzeit am kürzesten — 4—6 Sekunden, bei der Einführung in eine Arterie ist sie länger — 8—12 Sekunden, in die Aorta abdominalis noch länger und am längsten beim Einspritzen der Lösung in den Anfangsteil der Aorta thoracica, in welchem Fall die Latenzzeit 16—20 Sekunden betragen kann.

Unter dem Einfluß des Azetylcholins sinkt der Blutdruck plötzlich steil ab, wie dies bei Reizung des peripheren Endes von n. vagus beobachtet wird. Je nach der angewandten Dosis ist die Senkung stärker oder schwächer ausgedrückt. Bei der Zufuhr kleiner Dosen Azetylcholin sinkt der Blutdruck nur um einige Millimeter und erlangt schnell wieder das ursprüngliche Niveau, während er bei der Anwendung größerer Dosen bis zum Nullpunkt des Quecksilbermanometers absinkt und dort einige Sekunden verharren kann, wonach er allmählich zu steigen beginnt, um nach gewisser Zeit das Anfangsniveau zu erreichen oder etwas unter demselben zu verbleiben.

2. Blutgefäße.

Auch hier ist vor allem zu vermerken, daß die Wirkung des Azetylcholins auf die Blutgefäße von der Stelle, an der die Einspritzung erfolgt, abhängt. Wenn die Lösung in eine Vene injiziert wird, so zeigt sich eine bestimmte Wirkung im funktionellen Zustand der Blutgefäße, wird jedoch dieselbe Dosis in eine Arterie eingespritzt, so tritt die entgegengesetzte

Wirkung ein. Mit ein und derselben Dosis Azetylcholin kann bei dem gleichen Tier Erweiterung oder Zusammenziehung der Blutgefäße hervorgerufen werden, je nachdem, wo die Einspritzung erfolgt, ob in eine Arterie oder in eine Vene.

Intravenöse Einspritzung.

a) Milz. Bei der intravenösen Verabfolgung von Azetylcholin in den kleinsten Dosen, die eine minimale Blutdrucksenkung zeitigen, wie auch in allen größeren Dosen, erfolgt Zusammenziehung der Milz. Diese beginnt entweder gleichzeitig mit dem Einsetzen der Blutdrucksenkung oder 1—2 Sekunden später und erreicht in kurzer Zeit ihren Höhepunkt. Gewöhnlich ist die Zusammenziehung der Milz stark ausgeprägt, ihre Oberfläche wird rauh, körnig. In dieser Beziehung ähnelt die Wirkung des Azetylcholins bis zu einem gewissen Grade derjenigen des Adrenalins. Die Milz bleibt längere Zeit zusammengezogen als die Blutdrucksenkung anhält. Die Ausdehnung des Organs geht allmählich vor sich, und in verhältnismäßig kurzer Zeit erlangt es wieder seine vorherige normale Größe. In einigen Fällen erweitert sich die Milz, nachdem sie ihr ursprüngliches Ausmaß erreicht hat, noch weiter, und auf diese Weise tritt eine sekundäre Vergrößerung ihres Umfanges ein. In den meisten Fällen setzt die sekundäre Erweiterung der Milz zu der Zeit ein, da der gesunkene Blutdruck schon wieder auf sein normales Niveau zurückgekehrt ist. In diesen Fällen bleibt der Blutdruck trotz der Milzerweiterung auf dem normalen Niveau und behält es auch weiterhin bei. Die allmähliche Rückkehr der Milz zu ihrem normalen Umfang beeinflußt das Blutdruckniveau nicht. Das Azetylcholin verursacht dieselbe Zusammenziehung der Milz auch bei atropinisierten Tieren, wo der Blutdruck nicht absinkt, sondern steigt.

Wenn man die Zusammenziehung der Milz, die bei Reizung des peripheren Endes vom am Halse durchschnittenen n. vagus eintritt, wo die Blutdrucksenkung derjenigen beim Azetylcholin ziemlich ähnlich ist, mit der nach Einspritzung von Azetylcholin eintretenden Milzzusammenziehung vergleicht, so wird man sehen, daß im ersteren Falle eine rein passive Verringerung des Milzumfanges erfolgt, die durch die Blutdrucksenkung bedingt ist, während die Anwendung von Azetylcholin eine länger anhaltende Milzzusammenziehung erzeugt. Bei Reizung des n. vagus verlaufen die Kurve des Blutdrucks und das Onkogramm der Milz einander parallel: Das Absinken des Blutdrucks ist von entsprechender — was die Größe betrifft — Abnahme des Milzumfanges begleitet, und die Besserung des Blutdrucks geht mit Entspannung der Milz Hand in Hand. Bei Einspritzung von Azetylcholin ist die Zusammenziehung der Milz viel stärker ausgeprägt, von längerer Dauer und manchmal gefolgt von sekundärer Vergrößerung ihres Umfanges, etwas, was bei Reizung des n. vagus nie beobachtet wird.

Auch andere Beobachtungen ergeben dasselbe. Wenn man z. B. mit der Hand mechanisch den Anfangsteil der Aorta abdominalis zusammendrückt und dadurch die Blutzufuhr zu den Bauchorganen verringert oder unterbricht, so tritt je nach dem Grade der Verringerung der Blutzufuhr eine schwächer oder stärker ausgeprägte Abnahme des Milzvolumens ein. In diesen Fällen erfolgt eine rein passive Veränderung im Volumen dieses Organs, bedingt von der Verringerung der Blutzufuhr: gleichzeitig mit dem

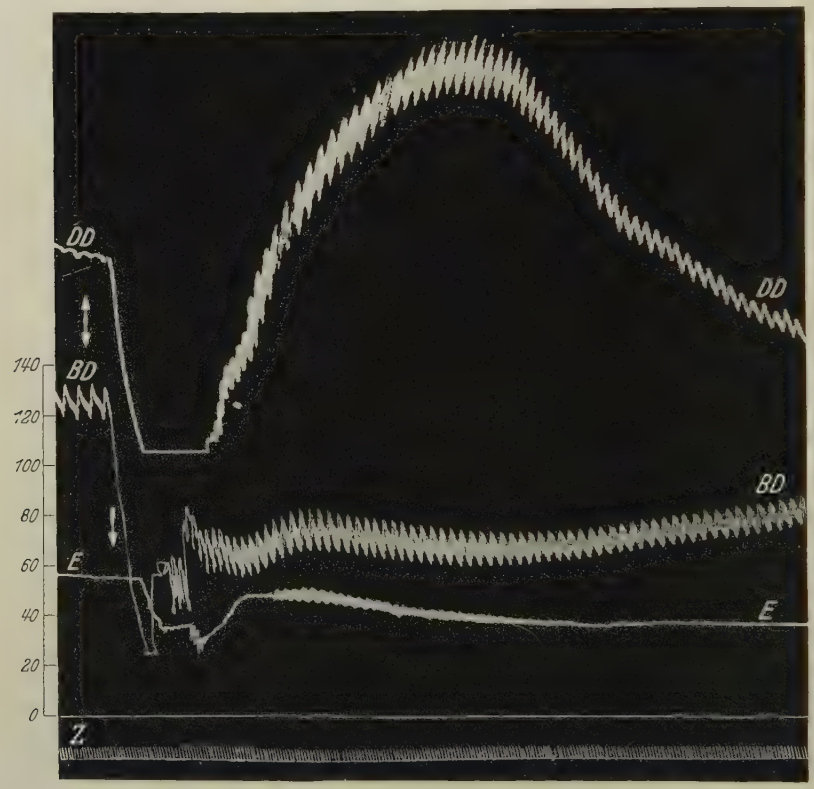


Abb. 1. 24. VI. 1939. Hund, 7 kg, ♀. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *E* = Extremitätsvolumen, 0 = Blutdrucknullniveau, *Z* = Zeit in Sek. Bei ↕ wurden 5 mg Azetylcholin „Roche" in die V. jugularis ext. injiziert.

Zusammendrücken der Aorta setzt Verringerung des Milzumfanges ein und gleichzeitig mit der Befreiung der Aorta — Entspannung desselben.

Alles dies zeigt, daß das Azetylcholin eine aktive Zusammenziehung der Milz verursacht.

b) Dünndarm. Gewöhnlich reagieren die Blutgefäße des Dünndarms mit einer Zweiphasenkurve, ausgedrückt in zuerst auftretender Zusammenziehung und nachfolgender Erweiterung. Die Zusammenziehung der Blutgefäße setzt plötzlich, gleichzeitig mit dem Absinken des Blutdrucks, ein,

erreicht in kurzer Zeit ihren Höhepunkt und verharrt gewisse Zeit auf diesem Niveau, worauf allmählich Entspannung erfolgt. In den meisten Fällen fängt die Entspannung der Gefäße etwas später an, nachdem der Blutdruck schon eine Besserung aufzuweisen beginnt; in kurzer Zeit überschreitet die Entspannung der Gefäße das normale Niveau, und auf diese Weise tritt eine sekundäre Erweiterung der Blutgefäße ein. Diese erreicht ihren Höhepunkt, fängt langsam an nachzulassen, und der Zustand der Blutfüllung des Dünndarms erlangt wieder sein vorheriges normales Niveau.

Die sekundäre Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms verläuft unabhängig vom Niveau des Blutdrucks: sie setzt allmählich ein und geht auch unabhängig davon, daß der Blutdruck noch niedrig ist, vorüber; in anderen Fällen wiederum erreicht der Blutdruck das normale Niveau, bevor noch die nachfolgende Erweiterung vollständig eingetreten ist. In diesen Fällen behält der Blutdruck, trotz der großen Blutfüllung des Dünndarms, sein beständiges Niveau bei und zeigt bis zum Aufhören der sekundären Erweiterung keinerlei Veränderung.

Auf Abb. 1 ist ein typischer Fall dargestellt. Man sieht, daß gleichzeitig mit der Senkung des Blutdrucks in kurzer Zeit eine stark ausgeprägte Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms einsetzt, derzufolge die Mareysche Kapsel sich höchstmöglich zusammenzieht und ihr Hebel eine horizontale Linie verzeichnet. Der Blutdruck sinkt und erreicht ein Niveau von 20 mm, beginnt nach einigen Sekunden zu steigen, und erst, als er das Niveau von 70 mm erlangt hat, fangen die Blutgefäße des Dünndarms an, sich zu entspannen, erreichen in kurzer Zeit das normale Niveau und überschreiten es weit. Die Erweiterung gelangt auf den Höhepunkt und geht vorüber, bevor der Blutdruck noch zu seinem Ausgangsniveau zurückgekehrt ist.

An atropinisierten Tieren beobachtet man in den meisten Fällen eine ebensolche Veränderung in den Blutgefäßen des Dünndarms, trotzdem der Blutdruck in diesen Fällen nur eine Erhöhung, ohne Senkung, erfährt. Wenn bei den atropinisierten Tieren der Blutdruck hoch steigt, so hält die vorübergehende Zusammenziehung kürzere Zeit an (Abb. 2). Diese Beobachtungen sprechen zugunsten der Annahme, daß die Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms nicht nur eine passive, vom Absinken des Blutdrucks herrührende Veränderung, sondern bis zu einem gewissen Grade auch eine aktive Zusammenziehung ist. Einen solchen Eindruck gewinnt man auch, wenn man die Ergebnisse, erhalten durch Reizung des peripheren Endes von n. vagus am Halse mit den bei Einspritzung von Azetylcholin erhaltenen vergleicht. Im ersteren Falle ist die Veränderung im Umfang des Dünndarms rein passiver Art, d. h. sie verläuft parallel mit der Veränderung im Niveau des Blutdrucks, ohne daß jene sekundäre Erweiterung einträte, die man nach Verabfolgung von Azetylcholin beobachtet.

Derselbe Unterschied kann festgestellt werden, wenn man die Ergebnisse von der Wirkung der Azetylcholineinspritzung mit denjenigen bei

Hemmung der Blutzufuhr zum Dünndarm durch mechanisches Zusammendrücken des Anfangsteils der Aorta abdominalis vergleicht. Im letzteren Fall hängt die Größe und die Dauer der Veränderung im Dünndarmvolumen ausschließlich von Grad und Dauer der Unterbrechung der Blutzufuhr ab, während die Veränderung durch Azetylcholin auf die obenbeschriebene Art und Weise verläuft.

Es muß jedoch sofort hinzugefügt werden, daß das Azetylcholin nicht bei allen atropinisierten Tieren Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünn-

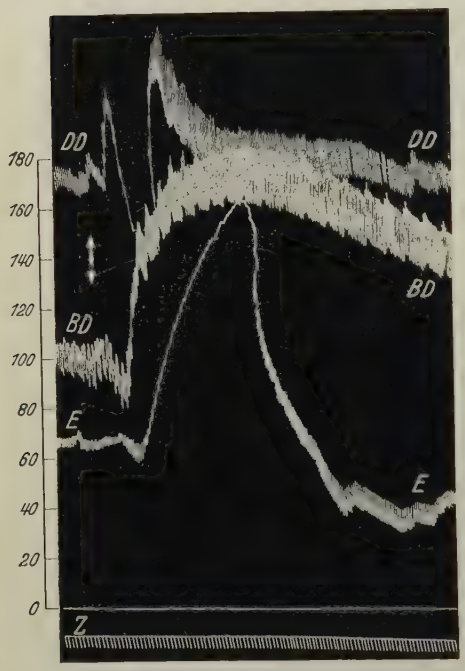


Abb. 2. 17. VIII. 1939. Hund, 10 kg, ♀. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *E* = Extremitätsvolumen, 0 = Blutdrucknullniveau, *Z* = Zeit in Sek. Bei ↕ wurden 10 mg Azetylcholin „Roche" in die V. jugularis ext. injiziert. 10 Minuten vorher wurden 2 cg Atropinum sulfuricum in dieselbe Vene injiziert.

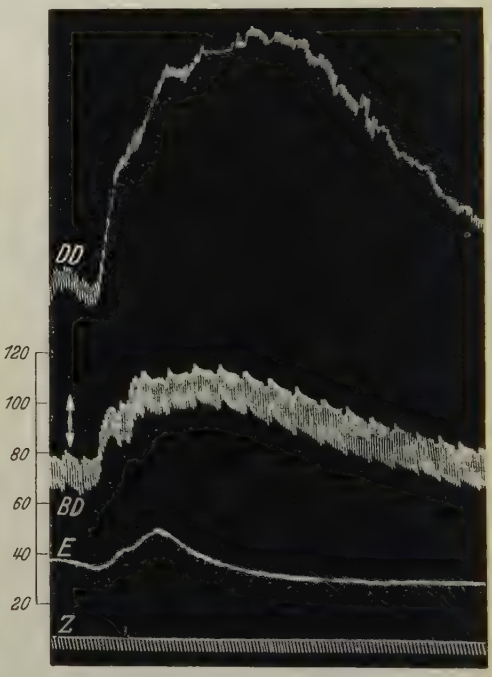


Abb. 3. 16. VIII. 1939. Hund, 5,5 kg, ♀. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *E* = Extremitätsvolumen, *Z* = Zeit in Sek. Bei ↕ wurden 3 mg Azetylcholin „Roche" in die V. jugularis ext. injiziert. 7 Minuten vorher wurden 2 cg Atropinum sulfuricum in dieselbe Vene injiziert.

darms verursacht. Bei einem gewissen, wenn auch kleinen Prozentsatz tritt nur eine Erweiterung ein, die parallel mit der Steigerung des Blutdrucks verläuft. Ein solcher Fall ist auf Abb. 3 dargestellt; man sieht dort, daß gleichzeitig mit der Blutdrucksteigerung eine Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten einsetzt. Dieser Fall ist auch in der Hinsicht interessant, daß der Blutdruck, trotz der Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten, steigt. Letzteres kann mit

der Blutfüllung des Dünndarms und der Extremitäten nicht in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden.

Die Blutgefäße des Dünndarms zeigen also in einigen Fällen aktive, in anderen passive Veränderung, ohne daß bisher irgendeine Gesetzmäßigkeit in dieser Beziehung bemerkt werden konnte.

c) Nieren. Die Blutgefäße der Nieren reagieren am häufigsten durch Zusammenziehen, dem manchmal eine sekundäre Erweiterung folgt. Die Reaktion verläuft in den meisten Fällen parallel mit der Veränderung im Blutdruckniveau und scheint allen Anzeichen nach passiv zu sein. Abb. 4 zeigt einen Fall, in dem die Einspritzung von Azetylcholin an einem atropinisierten Tier vorgenommen worden war. Der Blutdruck erfährt eine Zweiphasenveränderung, die in vorübergehender Senkung und nachfolgender Steigerung über das normale Niveau besteht. Auch die Kurve der Niere weist eine Zweiphasenreaktion auf, die parallel mit derjenigen des Blutdrucks verläuft: vorübergehende Abnahme des Umfanges dieses Organs, dann sekundäre Vergrößerung.

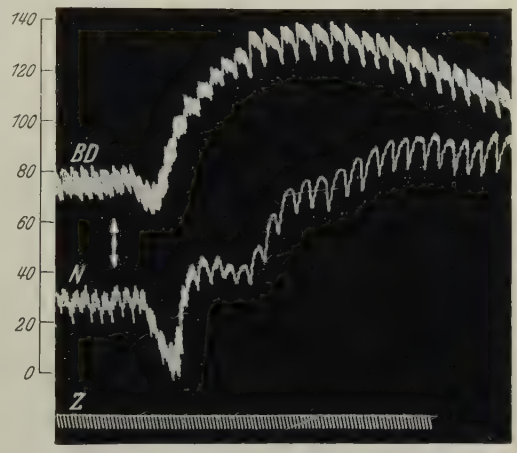


Abb. 4. 18. VIII. 1939. Hund, 12 kg, ♀. *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *N* = Nierenvolumen, *Z* = Zeit in Sek. Bei ↕ wurde 1 cg Azetylcholin „Roche" in die V. jugularis ext. injiziert. 5 Minuten vorher wurden 15 mgr Atropinum sulfuricum in dieselbe Vene injiziert.

Es kommen jedoch Fälle vor, in denen beim atropinisierten Tier gleichzeitig mit der Erhöhung des Blutdrucks nur eine Zusammenziehung der Blutgefäße der Niere eintritt, ein Zeichen dafür, daß die Reaktion dieser Gefäße nicht in allen Fällen passiv, von der Veränderung im Blutdruck herrührend, ist.

d) Extremitäten. An den Blutgefäßen der Extremitäten wird in allen Fällen ausnahmslos nur Zusammenziehung beobachtet, die plötzlich parallel mit dem Absinken des Blutdrucks einsetzt und parallel mit den Veränderungen des letzteren verläuft (Abb. 1). Bei atropinisierten Tieren, bei denen der Blutdruck erhöht ist, tritt nur eine Erweiterung der Gefäße auf (Abb. 3). Die durch Azetylcholin erzeugte Veränderung in den Blutgefäßen der Extremitäten ist also rein passiv, herrührend von der Veränderung im Blutdruckniveau.

Arterielle Anwendung.

Wenn das Azetylcholin in die A. femoralis der einen Extremität des Tieres eingespritzt wird, so erfolgt 2 –3 Sekunden nach der Einspritzung Erweiterung der Blutgefäße derselben Extremität und 4 –7 Sekunden nach der Erweiterung Absinken des Blutdrucks und Zusammenziehung der Blutgefäße der anderen drei Extremitäten des Tieres. Die Erweiterung der Gefäße der Extremität setzt plötzlich ein und erreicht in kurzer Zeit ihren Höhepunkt, wonach sie allmählich vorübergeht. Die Zusammenziehung der Gefäße der anderen Extremitäten tritt gleichzeitig mit dem

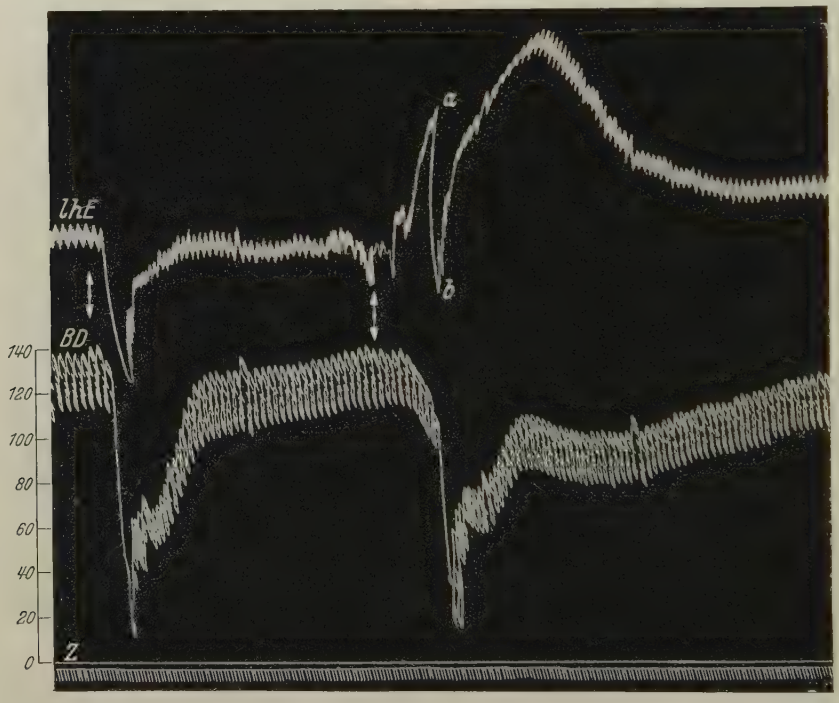


Abb. 5. 10. I. 1940. Hund, 14 kg, ♂. *lhE* = Volumen der linken hinteren Extremität, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, 0 = Blutdrucknullniveau, *Z* = Zeit in Sek. Der Pfeil links zeigt den Augenblick der Einspritzung von 0,5 mg Azetylcholin „Roche" in die V. jugularis ext., und der Pfeil rechts die Einspritzung derselben Dosis in die A. femoralis sinistra.

Beginn der Blutdrucksenkung ein und verläuft parallel mit der Veränderung im Niveau des Blutdrucks, d. h. es wird dieselbe passive Veränderung im Zustand der Gefäße beobachtet, wie sie auch bei venöser Verabfolgung vor sich geht. Diese verschiedene Art des Reagierens seitens der Blutgefäße der Extremitäten bemerkt man sowohl bei Anwendung kleiner als auch bei Benutzung mittlerer und großer Dosen Azetylcholin, mit der Besonderheit, daß bei großen Dosen die Erweiterung der Blutgefäße plötzlich für kurze Zeit unterbrochen wird und aufs neue wieder Erweiterung eintritt

(Abb. 5, a b). Diese kurzdauernde Unterbrechung der Erweiterung fällt zeitlich mit dem Beginn des steilen Absinkens des Blutdrucks zusammen. Die Blutzufuhr zu der Extremität nimmt plötzlich ab und wird nach kurzer Zeit erneut wiederhergestellt.

Abb. 5 stellt einen Fall dar, in dem zu Anfang des Versuchs $^1/_{28}$ mg pro kg Körpergewicht Azetylcholin in die V. jugularis ext. eingespritzt wurde. Als Folge davon tritt eine passive Zusammenziehung der Blutgefäße der linken hinteren Extremität ein. Einige Minuten später, nachdem die Wirkung des Azetylcholins auf die Blutgefäße vorübergegangen war, wurde dieselbe Dosis Azetylcholin in die A. femoralis sinistra eingespritzt. 2—3 Sekunden danach erfolgte Erweiterung der Blutgefäße der linken Extremität. Diese Veränderung im Zustand der Blutgefäße dauert so lange, wie auch die Veränderung im Niveau des Blutdrucks anhält. Aus der Abbildung ist ersichtlich, daß ein und dieselbe Dosis Azetylcholin Zusammenziehung oder Erweiterung der Blutgefäße der Extremität hervorruft, je nach der Stelle, wo sie eingespritzt wird. Außerdem sieht man, daß der Blutdruck in beiden Fällen die gleiche Veränderung erfährt, unabhängig davon, daß sich die Blutgefäße in dem einen Fall zusammenziehen, in dem anderen erweitern. Dasselbe ist zu beobachten, wenn das Azetylcholin zuerst in die Arterie und dann in die Vene eingeführt wird.

Wenn das Azetylcholin in den unteren Teil der Aorta abdominalis eingespritzt wird, so beobachtet man in den meisten Fällen eine Erweiterung der Blutgefäße der beiden hinteren Extremitäten und Zusammenziehung von denjenigen der beiden vorderen Extremitäten.

Man kann also bei intraarterieller Verabfolgung von Azetylcholin zwei verschiedene funktionelle Zustände der Blutgefäße der Extremitäten feststellen: während die einen zusammengezogen sind, sind die anderen erweitert.

In den Fällen, in denen das Azetylcholin in die Aorta thoracica eingespritzt wird, tritt in den meisten Fällen eine Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms ein, der zuweilen eine kurzdauernde Zusammenziehung vorhergeht; die Milz zieht sich regelmäßig zusammen und die Gefäße der Extremitäten tun dies in den meisten Fällen.

Bei den intraarteriellen und intraaortalen Einspritzungen von Azetylcholin geht die Veränderung im Zustand der Blutgefäße derjenigen im Blutdruck voraus.

Einfluß des Azetylcholins auf den Blutdruck von eviscerierten Tieren, von Tieren mit verkürztem großen Blutkreislauf und von dekapitierten Tieren.

Um festzustellen, welche Rolle die Blutgefäße der Bauchorgane bei der nach Einspritzung von Azetylcholin eintretenden Veränderung im Blutdruckniveau spielen, wurden einigen Versuchstieren die Bauchorgane

nacheinander herausgenommen, mit Ausnahme der Leber, deren Blutkreislauf durch Anlagen von Ligaturen an die zu- und abführenden Blutgefäße ausgeschlossen wurde. Bei diesen Versuchen wurde die Evisceration ohne großen Blutverlust ausgeführt, und der Blutdruck behielt sein normales Niveau bei. In allen Fällen, in denen Azetylcholin in ein und derselben Dosis zweimal — einmal vor und einmal nach Eviscerierung des Tieres — eingespritzt wurde, stellte man die gleiche Veränderung im Blutdruckniveau fest. Der Blutdruck sank in beiden Fällen auf dasselbe Niveau. Wenn man die beiden Kurven des Blutdrucks miteinander vergleicht, so wird man sehen, daß sie einander völlig gleich sind.

Zu demselben obenerwähnten Zweck nahm man an einigen Tieren Verkürzung des großen Blutkreislaufs vor, wobei aus letzterem alle Gefäßgebiete, mit Ausnahme des Splanchnicusgebietes, ausgeschlossen wurden*. Auch in diesen Fällen beobachtet man dieselbe Veränderung am Blutdruck wie bei Tieren mit beibehaltenem großen Blutkreislauf. In keinem einzigen Falle konnte irgendein wesentlicher Unterschied bemerkt werden.

Bei dekapitierten Tieren bewirkt das Azetylcholin dieselbe Veränderung im Niveau des Blutdrucks wie bei den Tieren mit Kopf. Die Einspritzung von ein und derselben Dosis Azetylcholin vor und nach Entfernung des Kopfes zeitigt die gleiche Senkung des Blutdrucks.

Einfluß des Azetylcholins auf die Herztätigkeit.

In unseren früheren Arbeiten ist festgestellt worden, daß das Azetylcholin beim isolierten Froschherzen die Herztätigkeit verlangsamt und verringert und in stärkeren Konzentrationen zu Stillstand des Herzens in der Diastole führt. Dasselbe wurde am Herzen vom ganzen Tier (Säugetier) bei Einspritzung von Azetylcholin in eine Vene bemerkt. Außerdem stellte man durch Registrierung des Mechanogramms des Herzens bei geöffnetem Brustkorb des Tieres eine vollkommene Abhängigkeit des Blutdrucks von den in der Herztätigkeit vor sich gehenden Veränderungen fest: das Absinken des Blutdrucks ist von Verringerung und Verlangsamung der Herztätigkeit begleitet, seine Besserung verläuft parallel mit Besserung der Herztätigkeit.

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir das Verhältnis zwischen den Veränderungen in der Herztätigkeit einerseits und im Blutdruck andererseits, indem das Tonogramm des linken Ventrikels, ohne daß man den Brustkorb des Tieres öffnete, registriert wurde. Zu diesem Zweck benutzt man einen Tonographen, der durch die Muskulatur eines der linken Zwischenrippenräume eingeführt wird. Das freie Ende des Tonographen verbindet man mit dem Registriersystem, dessen Schreibspitze an den Kymographen gebracht wird, auf dem gleichzeitig auch der Blutdruck von einer Arterie verzeichnet wird.

* Die Technik ist von Gotsev, Lueken und Simmendinger in der Z. exper. Med. **100**, 81 (1936) beschrieben worden.

In ausnahmslos allen Fällen verursacht das Azetylcholin Verlangsamung und Verringerung der Herztätigkeit; diese Veränderung fällt zeitlich mit dem Absinken des Blutdrucks zusammen. Wenn das letztere stärker ausgeprägt ist, fällt der Hebel des Manometers steil nach unten; das Herz kommt zu dieser Zeit in der Diastole zum Stillstand und dies dauert so lange, bis der Blutdruck sich allmählich zu bessern beginnt. Gleichzeitig mit der Besserung des Blutdrucks geht auch eine Beschleunigung und Zunahme der Herztätigkeit vor sich, welch letztere erst normal wird, wenn der Blutdruck sein normales Niveau erreicht. Die Veränderungen im Blutdruckniveau stehen in völliger Abhängigkeit von denjenigen in der Herztätigkeit. Diese Abhängigkeit besteht in allen Fällen, sowohl bei Einspritzung

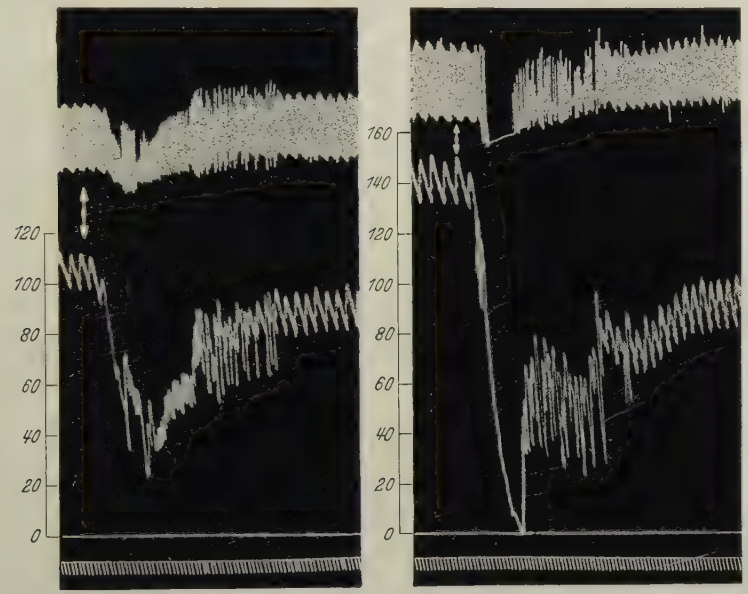


Abb. 6. 15. VIII. 1939. Hund, 16 kg, ♂. Oben Tonogramm der linken Kammer, unten Blutdruck in der A. carotis, Zeit in Sek. Links: Bei ↕ wurde $^1/_{10}$ mg pro kg Körpergewicht Azetylcholin „Roche" in die V. jugularis ext. injiziert. Rechts: Bei ↕ wurden $^3/_{10}$ mg pro kg Körpergewicht Azetylcholin „Roche" in dieselbe Vene injiziert.

minimaler als auch bei der Anwendung mittlerer und großer Dosen Azetylcholin. Auf Abb. 6 ist das Ergebnis eines Versuchs an einem Hund dargestellt, dem nacheinander in einem gewissen Zeitabstand zwei verschiedene Dosen Azetylcholin eingespritzt wurden. Bei Verabfolgung von $^1/_{10}$ mg Azetylcholin pro kg Körpergewicht tritt Absinken des Blutdrucks ein, der ein Niveau von 30 mm auf dem Quecksilbermanometer erreicht. Man sieht, daß gleichzeitig hiermit eine Verlangsamung und Verringerung der Herztätigkeit einsetzt. Die Besserung des Blutdrucks geht Hand in Hand mit Beschleunigung und Zunahme der Herztätigkeit. Bei Anwendung von grö-

ßerer Dosis $^3/_{10}$ mg, tritt ein Absinken des Blutdrucks bis zu 0 des Manometers ein; zu dieser Zeit erfolgtStillstand des Herzens in der Diastole, und so lange dies dauert, bleibt der Blutdruck auf dem Nullpunkt.

In denjenigen Fällen, in denen das Azetylcholin Tieren injiziert wurde, die vorher mit venösen Einspritzungen von 1—2 cg Atropin atropinisiert worden waren, und der Blutdruck, anstatt zu fallen, stieg, verlief letzteres nur mit Erhöhung der Herztätigkeit, ohne irgendwelche Verringerung (Abb. 7). Wenn bei der Atropinisierung des Tieres eine kleinere Dosis Atropin verwendet wurde, oder wenn das Azetylcholin lange Zeit nach der Atropinisierung verabreicht wurde, so trat eine Zweiphasenveränderung

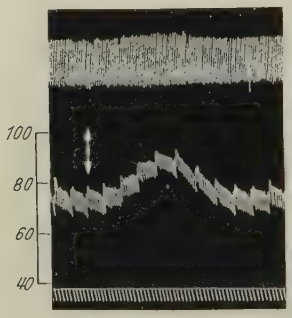


Abb. 7. 14. VIII. 1939. Hund, 15 kg, ♀. Oben Tonogramm der linken Kammer, unten Blutdruck in der A. carotis, Zeit in Sek. Bei ⇕ wurde $^1/_5$ mg pro kg Körpergewicht Azetylcholin „Roche" in die V. jugularis ext. injiziert. 5 Minuten vorher wurde 1 cg Atropinum sulfuricum in dieselbe Vene injiziert.

im Niveau des Blutdrucks ein, ausgedrückt in vorübergehendem Absinken und darauffolgender Steigerung. In diesen Fällen lag die Veränderung der Herztätigkeit zuerst in Verringerung der Herztätigkeit und dann in anschließender Erhöhung derselben. Wie in den anderen Fällen, so wird auch hier vollkommene Wechselbeziehung zwischen den Veränderungen in der Herztätigkeit und denjenigen im Blutdruck beobachtet.

Die vom Azetylcholin am ganzen Tier hervorgerufenen Veränderungen in der Herztätigkeit können direkt, ohne jede Apparatur, festgestellt werden. Wenn man bei geöffnetem Bauch des Tieres und bei unversehrtem Zwerchfell die Spitze des Herzens durch jenes hindurch betastet, so kann man, nach Einspritzung von Azetylcholin, sehr deutlich die eintretende Verlangsamung der Herztätigkeit wie auch darauffolgende Beschleunigung wahrnehmen. Wenn man gleichzeitig auch den Blutdruck des Tieres verzeichnet, so wird man die oben dargelegte Wechselbeziehung feststellen. Die Veränderungen in der Herztätigkeit können auch direkt mit dem Auge bei geöffnetem Brustkorb des Tieres beobachtet werden. Die Verlangsamung und der Stillstand der Herztätigkeit in der Diastole und die darauffolgende Beschleunigung und Erhöhung der Herztätigkeit sind sehr gut zu sehen. Bei atropinisierten Tieren kann die eintretende Erhöhung der Herztätigkeit ebenso mit der Hand wahrgenommen oder mit dem Auge bei geöffnetem Brustkorb gesehen werden.

Die Einführung von 1–2 Tropfen schwacher Azetylcholinlösung in eine der Höhlen des soeben herausgeschnittenen und sich noch zusammenziehenden Herzens zeitigt unverzüglich Stillstand des Herzens in der Diastole.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus dem bisher Dargelegten geht deutlich hervor, daß das Absinken des Blutdrucks, das regelmäßig nach venöser Einspritzung von Azetylcholin eintritt, nicht durch die Veränderungen erklärt werden kann, die im funktionellen Zustand der Blutgefäße der Bauchorgane und der Extremitäten erfolgen. Vor allem treten die Veränderungen in den Blutgefäßen entweder gleichzeitig oder 1–2 Sekunden nach Beginn der Blutdrucksenkung ein, und aus diesem Grunde kann die letztere nicht in ursächlicher Verbindung zu den Gefäßveränderungen stehen. Zu der Zeit, in welcher der Blutdruck herabgesetzt ist, erfolgt nur Zusammenziehung der Gefäße. In keinem einzigen Fall tritt bei intravenöser Anwendung von Azetylcholin Erweiterung der Gefäße während der Zeit, in welcher der Blutdruck herabgesetzt ist, auf. Einige Verfasser [Bohnstedt (12)] nehmen an, daß das Azetylcholin in größeren Dosen Erweiterung der Blutgefäße beim Menschen bewirkt. Die Versuche an Tieren bestätigen diese Ansicht nicht. Bei Anwendung auch der größten Dosen Azetylcholin kann keinerlei Erweiterung der Blutgefäße beobachtet werden. Allerdings tritt in einigen Organen eine sekundäre Erweiterung, die zuweilen ziemlich deutlich ausgeprägt ist, ein, doch fällt diese zeitlich nicht mit der Senkung des Blutdruckes, sondern mit seiner Besserung zusammen, d. h. mit der Zeit, in welcher der Blutdruck steigt, um sein normales vorheriges Niveau wiederzuerlangen.

Die aufeinanderfolgende Einführung ein und derselben Dosis Azetylcholin zuerst in die Arterie und dann in die Vene des Tieres oder umgekehrt zeitigt einen qualitativen Unterschied in der Art und Weise, auf welche die Gefäße reagieren: In dem einen Fall erfolgt Zusammenziehung, in dem anderen Erweiterung, während die Veränderungen im Blutdruckniveau in beiden Fällen vollkommen gleich sind, sowohl was Größe wie auch was Zeitdauer betrifft. Bei zwei völlig einander entgegengesetzten funktionellen Zuständen der Blutgefäße tritt die gleiche Veränderung im Blutdruckniveau ein. Wenn der Zustand der Blutgefäße der Hauptfaktor wäre, der die Veränderung im Blutdruckniveau bewirkt, so müßte in denjenigen Fällen, in denen mit intraarterieller oder intraaortaler Anwendung von Azetylcholin Erweiterung der Blutgefäße der einen oder beider hinterer Extremitäten eintritt, die Veränderung im Blutdruckniveau größer sein, d. h. der Blutdruck tiefer sinken als bei intravenöser Einspritzung, da bei der letzteren nur Zusammenziehung der Blutgefäße der Extremitäten erfolgt. Außerdem müßte, wenn die Blutgefäße wirklich der Hauptfaktor für die Regulierung des Blutdrucks wären, in den Fällen, in denen bei

intraaortaler Anwendung von Azetylcholin Erweiterung der Gefäße eintritt, diese Erweiterung unverzüglich zu Absinken des Blutdrucks führen, d. h. dieser müßte 3—5 und nicht 8—12 Sekunden nach der Einspritzung sinken. Es ist klar, daß in diesem Falle der Blutdruck erst dann zu sinken beginnt, wenn das Azetylcholin zu dem Herzmuskel gelangt.

Wenn die Blutgefäße der Hauptfaktor für die Regulierung des Blutdrucks wären, so müßte die Wirkung des Azetylcholins auf den Blutdruck beim eviscerierten Tier schwächer ausgeprägt sein und ein Unterschied in der vor und nach der Eviscerierung hervorgerufenen Veränderung festgestellt werden. Ferner müßte auch bei Tieren mit verkürztem großen Blutkreislauf ein wenn auch noch so kleiner Unterschied in der Wirkung des Azetylcholins wahrgenommen werden.

Vergleicht man die Ergebnisse von der Wirkung des Azetylcholins auf die Blutgefäße und den Blutdruck vor und nach Atropinisierung des Tieres, so wird man sehen, daß ein und dieselbe Dosis im ersten Fall Absinken des Blutdrucks und im zweiten Erhöhung desselben verursacht, obgleich in beiden Fällen Zusammenziehung der Blutgefäße erfolgt.

Bei der Einspritzung von Azetylcholin in die Aorta, besonders in die Aorta thoracica, müßte man erwarten, daß die Wirkung auf den Blutdruck viel schneller einträte als in denjenigen Fällen, in denen das Azetylcholin in eine Vene eingespritzt wird, da im ersten Fall der injizierte Stoff sofort in die Blutgefäße des großen Blutkreislaufes gerät, wo die Wirkung viel eher eintritt als bei venöser Verabfolgung, bei welcher der Stoff erst durch die Lunge hindurchgehen muß, um in den großen Blutkreislauf zu gelangen. Die Veränderungen im Blutdruckniveau treten früher oder später ein, nicht in Abhängigkeit von der Zeit, zu der die Veränderungen in den Blutgefäßen eintreten, sondern je nachdem, wann der Stoff zu dem Herzen gelangt.

Von allem diesem unabhängig ist die Wirkung des Azetylcholins in einer negativen chrono- und inotropen Wirkung ausgedrückt. Diese Wirkung des Azetylcholins kann bei geöffnetem Brustkorb des Tieres beobachtet werden. Die Veränderung in der Herztätigkeit verläuft parallel mit derjenigen im Niveau des Blutdrucks: die Verringerung der Herztätigkeit mit Sinken des Blutdrucks, ihre Besserung mit Besserung des Blutdrucks; bei Normalisierung der Herztätigkeit erreicht der Blutdruck sein normales Niveau.

Aus dem bisher Dargelegten geht deutlich hervor, daß die Ursache für die Blutdrucksenkung nach Azetylcholin nicht die im Zustand der Blutgefäße, sondern die in der Herztätigkeit eintretenden Veränderungen sind. Das Azetylcholin verursacht negative chrono- und inotrope Wirkung des Herzens, und diese ist die einzigste Ursache für die Veränderung im Blutdruck. Bei atropinisierten Tieren ist die Wirkung des Azetylcholins auf das Herz eine umgekehrte, sie wird positiv, und als Folge davon steigt auch der Blutdruck.

Zusammenfassung.

1. Das Azetylcholin verursacht Absinken des Blutdrucks von verschiedener Größe und Zeitdauer, je nach der angewandten Dosis. Die Zeit von der Verabfolgung des Azetylcholins bis zum Beginn der Veränderung im Blutdruckniveau hängt ausschließlich von der Stelle der Einspritzung ab. Wenn das Azetylcholin in eine Vene injiziert wird, dann ist diese Zeitspanne am kürzesten — 4—6 Sekunden, wenn es in die A. femoralis der hinteren Extremität eingespritzt wird, ist sie länger — 8—12 Sekunden, in den Anfangsteil der Aorta abdominalis noch länger und am längsten bei Einspritzung in die Aorta thoracica — 16—20 Sekunden.

2. Die Wirkung des Azetylcholins auf die Blutgefäße hängt vor allem von der Stelle der Einspritzung ab. Intravenöse Verabfolgung verursacht Zusammenziehung der Milz, Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms, der Nieren und der Extremitäten. In einigen Fällen weisen die Blutgefäße des Dünndarms und der Nieren eine sekundäre Erweiterung auf, die zur Zeit der Besserung des Blutdrucks auftritt, d. h. zu der Zeit, da der Blutdruck steigt, um sein vorheriges normales Niveau zu erreichen. Nur Erweiterung der Blutgefäße wurde bei venöser Einspritzung in keinem einzigen Falle beobachtet.

Die Veränderungen im Zustand der Blutgefäße treten bei venöser Einspritzung entweder gleichzeitig mit dem Absinken des Blutdrucks oder 1—2 Sekunden später ein, gehen ihm aber in keinem Falle voraus.

Die intraarterielle Anwendung von Azetylcholin verursacht meist Erweiterung der Blutgefäße derjenigen Gegend, wo der Stoff eingespritzt wird, und Zusammenziehung der übrigen Gefäße des Körpers. Bei intraarterieller und intraaortaler Verabfolgung tritt die Wirkung unmittelbar nach der Einspritzung, d. h. nach 2—3 Sekunden ein, während die Veränderung im Blutdruckniveau nach einer Latenzzeit erfolgt, die ausschließlich von dem Wege, den das Azetylcholin bis zur Erreichung des Herzens zurückzulegen hat, abhängt.

3. Bei eviscerierten und dekapitierten Tieren sowie an Tieren mit verkürztem großen Blutkreislauf bewirkt das Azetylcholin das gleiche Absinken des Blutdrucks wie an den anderen Tieren.

4. Auf das Herz übt das Azetylcholin eine negative chronotrope und inotrope Wirkung aus. Bei atropinisierten Tieren wird diese Wirkung positiv.

5. Die Veränderungen im Blutdruckniveau hängen ausschließlich von denjenigen in der Herztätigkeit ab. Gleichzeitig mit dem Absinken des Blutdrucks erfolgt auch Verlangsamung und Abnahme der Herztätigkeit. Zugleich mit der Besserung der Herztätigkeit verläuft auch die Besserung des Blutdrucks, und wenn die Herztätigkeit normal wird, erreicht der Blutdruck sein vorheriges normales Niveau. Bei atropinisierten

Tieren ruft das Azetylchlolin eine Erhöhung des Blutdrucks gleichzeitig mit einer Zunahme der Herztätigkeit hervor.

6. Das Herz ist der Hauptfaktor, der die Veränderung im Blutdruck nach Anwendung von Azetylcholin bedingt. Die Blutgefäße nehmen an dieser Veränderung gar keinen Anteil.

Literatur.

1) Gaehtgens: Dorp. med. Z. **1870**, S. 185; zit. nach Alberts, G. G.: Erg. inn. Med. **43**, 114 (1932). — 2) Mott, F. W., u. W. D. Halliburton: J. Physiol. (Brit.) **21**, XVIII (1897). — 3) Dale, H. H.: J. Pharmacol. (Am.) **6**, 147 (1914). — 4) Gotsev, T.: Jahrb. d. Med. Fakultät Sofia **13**, 509 (1934). — 5) Gotsev, T.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 207 (1936). — 6) Gotsev, T., B. Lueken u. W. Simmendinger: Z. exper. Med. **100**, 81 (1936). — 7) Ferguson, J., A. C. Ivy u. H. Greengard: Amer. J. Physiol. **117**, 701 (1936). — 8) Sturm, A., u. H. Dauter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 368 (1937). — 9) Loewi, O.: Pflügers Arch. **189**, 239 (1921). — 10) Loewi, O.: Proc. Roy. Soc. **118**B, 299 (1935). — 11) Dale, H. H.: Brit. med. J. **1934**, S. 835. — 12) Bohnstedt: Arch. Derm. (D.) **166**, 163.

Aus den Pharmakologischen Instituten der Universitäten Greifswald und Halle.

Untersuchungen über die Wirkung des Schöllkrauts auf die Abscheidung der Galle.

Von

Gerhart Urban.

(Eingegangen am 26. Februar 1940.)

Das Schöllkraut und seine Zubereitungen sind seit langem in der Heilkunde im Gebrauch. Von älteren Autoren hat sich besonders Rademacher[1] mit den Heilwirkungen der Pflanze beschäftigt; nach ihm trägt die Schöllkrauttinktur des Arzneischatzes ihren Namen. In der Homöopathie hat das Schöllkraut stets große Wertschätzung erfahren. Außerdem befassen sich viele Kräuterbücher mit dieser Pflanze. H. Schulz[2] erwähnt ihre Anwendung in der Volksheilkunde bei Leberkrankheiten, bösartigen Geschwülsten sowie zum Entfernen von Warzen. Recht eingehende Tierversuche über die Wirkung der Chelidoniumalkaloide sind bereits 1892 von H. H. Meyer[3] angestellt worden.

In neuerer Zeit hat Stickl[4, 5] auf die wachstumshemmende Wirkung von Extrakten und Alkaloiden des Schöllkrauts gegenüber bestimmten Bakterien aufmerksam gemacht und über die Beeinflussung des übertragbaren Mäusecarcinoms durch die Alkaloide berichtet. Über die Wirkung des Chelidonins auf glattmuskelige Organe liegen Arbeiten von Anan[6] und Hanzlik[7] vor; letzterer hat auf die therapeutische Anwendung bei Krampfzuständen der glatten Muskulatur hingewiesen.

Auf Grund neuester Veröffentlichungen ist eine andere Anzeige zur Verwendung des Schöllkrauts in den Vordergrund getreten: Erkrankungen der Leber und der Gallenwege. Allerdings hat schon Rademacher diesen Verwendungszweck angegeben, und auch im Schrifttum der Homöopathie finden sich Hinweise auf Heilerfolge mit Schöllkraut bei derartigen Erkrankungen.

In letzter Zeit sind eine Reihe Schöllkraut enthaltender Mittel für diesen Zweck in Aufnahme gekommen, nachdem sich besonders Daniel[8, 9] auf Grund klinischer Beobachtungen für die Behandlung von Leber- und Gallenblasenerkrankungen mit der Pflanze ausgesprochen hat. Daniel

---

[1] Rademacher, J. G.: Erfahrungsheillehre **1**, 163 (1848). — [2] Schulz, H.: Wirkung und Anwendung der deutschen Arzneipflanzen, 129 (1929). — [3] Meyer, H. H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **29**, 397 (1892). — [4] Stickl, O.: Z. Hyg. **108**, 567, 626 (1928). — [5] Stickl, O.: Virchows Arch. **270**, 801 (1928). — [6] Anan, S.: Fol. pharmacol. japon. **8**, 42 (1929). — [7] Hanzlik, P.: Journ. Pharmacol. (Am.) **18**, 63 (1921). — [8] Daniel, K.: Klin. Wschr. **17**, 422 (1938). — [9] Daniel, K.: Pharmaz. Z.halle Dtschld. **79**, 99 (1938).

geht von der Annahme aus, daß das Schöllkraut bei den erwähnten Krankheiten bakterizid und ausgesprochen galletreibend wirkt. Er sieht die cholagoge Wirkung als unbestreitbar an und schreibt sie dem Gesamtkomplex der Pflanze zu. Zu dieser Feststellung scheint er vorwiegend durch klinische Beobachtungen gelangt zu sein, da über eigene Tierversuche keine näheren Angaben gemacht werden. Der Auffassung Daniels folgt aus pharmazeutischen Überlegungen Schmaltz[10] ohne Angabe von experimentellen Unterlagen. Auch eine Arbeit von Bödiker[11] bringt keine Prüfung der Wirkung durch den Tierversuch, stützt sich aber auf eine Anzahl klinischer Beobachtungen.

Gegen die Annahme Daniels von der galletreibenden Eigenschaft des Schöllkrauts kann ein kurzer Hinweis von Merck[12] angeführt werden, wonach eine Anregung der Galleabsonderung unter Schöllkrautwirkung nicht beobachtet wurde.

Demnach ist die Frage, ob das Schöllkraut Anspruch besitzt, als galletreibendes Mittel bezeichnet zu werden, zweifellos noch nicht genügend geklärt. Da aber andererseits bereits eine Reihe von Schöllkrautpräparaten zur Behandlung von Leber- und Gallenleiden in den Handel gelangt ist, erschien es angebracht, deren Wirksamkeit auf die Galleabscheidung im Tierversuch zu prüfen. Eine solche Prüfung habe ich angestellt. Ihr Ergebnis lege ich im folgenden vor.

Methodik.

Als Versuchstiere eignen sich für diesen Zweck Kaninchen besonders gut[14]. Ich benutzte Tiere im Gewicht von 1800—2700 g. Sie wurden mit Urethan narkotisiert, weil dieses nach den Erfahrungen von Stransky[13, 14] die Lebertätigkeit nicht beeinträchtigt. Die Tiere erhielten durchschnittlich 1,25 g/kg, und zwar mittels Schlundsonde, um durch die verzögerte Aufnahme vom Magen-Darmkanal aus eine möglichst lange Dauer der Narkose zu erzielen. Die Anlegung der Choledochusfistel erfolgte nach der von Stransky[15] angegebenen Methode, die ausfließenden Gallemengen wurden gemessen. Im einzelnen wurde die Operation folgendermaßen ausgeführt: Nach Freilegung der Leber und des Duodenums wurde bei den Tieren der einen Gruppe der Gallenblasengang unterbunden und eine Glaskanüle im Choledochus befestigt, die mit einem Schlauch zur Ableitung der Galle versehen wurde. In der Nähe der Papille wurde eine weitere Kanüle in den Zwölffingerdarm eingebunden, durch welche die Wiedereinspritzung der in der Zeiteinheit aufgefangenen Galle erfolgte, um den physiologischen Kreislauf der Galle im wesentlichen aufrechtzuerhalten. Naht der Bauchdecken und der äußeren Haut. Auf sorgfältige Befestigung der Kanülen muß geachtet werden, damit keine Abknickungen erfolgen. — Die Tiere der anderen Versuchsreihe wurden in jeder Hinsicht gleichartig behandelt, nur unterblieb bei ihnen die Unterbindung des Gallenblasenganges, um eine etwaige Mitbeteiligung der Gallenblase beobachten zu können.

---

[10] Schmaltz, D.: Dtsch. Apoth. Ztg. **53**, 1169 (1938). — [11] Bödiker, E.: Fschr. Ther. **14**, 164 (1938). — [12] Merck, E.: Jber. **50**, 103 (1936). — [13] Stransky, E.: Biochem. Z. **155**, 256 (1925). — [14] Stransky, E.: Z. exper. Med. **66**, 73 (1929). — [15] Stransky, E.: Biochem. Z. **143**, 438 (1923).

Während des Verlaufs der Versuche wurden sämtliche Tiere mittels Heizung und Bedeckung mit Tüchern bei gleichbleibender Temperatur gehalten.

Die Beibringung der zu prüfenden Mittel, deren Verdünnungen mit Ringerlösung hergestellt wurden, erfolgte teils durch die Kanüle ins Duodenum, teils wurden sie in die Ohrvene eingespritzt. Gemessen wurden die in der Zeit von 15—20 Minuten produzierten Gallemengen vor und nach der Zuführung des Schöllkrautpräparates. Außerdem wurde der Prozentgehalt der Galle an fester Substanz ermittelt, wozu eine geringe Menge eingedunstet und der Rückstand nach Trocknung bei 100° gewogen wurde.

Die Untersuchungen mit Hilfe der vorstehenden Methodik erstreckten sich auf eine größere Anzahl von Schöllkrautzubereitungen. Um zu einem eindeutigen Urteil zu gelangen, wurden kleinste, mittlere und große Gaben geprüft. Die verabreichten Dosen umfaßten einen Bereich von Bruchteilen eines Milligramms bis zu 3,0 g/kg wirksamer Substanz je nach der Art des benutzten Mittels. Von Frischkrautpräparaten gelangten zur Untersuchung die Schöllkrauttinktur nach Rademacher (Tinctura Chelidonii e herba recente „Rademacher"), die nach Vorschrift des Erg. B. 5 zum D.A.B. von mir hergestellt wurde, ferner ein nach dem Ysatverfahren gewonnenes und mit dem vorläufigen Namen „Chelidonysat"* belegtes Präparat, welches sich noch nicht im Handel befindet, und ein neues, als „Stadachol" bezeichnetes Mittel der Deutschen Apothekerschaft, das aus einer Apotheke beschafft wurde. Als Zubereitungen aus frischer Wurzel wurden „Chelidonium-Plantrit"* und die flüssigen homöopathischen Potenzen Chelidonium D_2, D_3, D_4, D_6* in die Untersuchung einbezogen, letztere, um die Wirkung kleinster Dosen zu prüfen. Von der getrockneten Pflanze* fanden Verwendung eine selbstbereitete 20%ige Tinktur und 10%ige Abkochungen.

Zum Vergleich wurde bei fast allen Versuchen das dehydrocholsaure Natrium in Form des „Decholins"** herangezogen, welches sich nach Neubauer[16] als ausgezeichnetes galletreibendes Mittel erwiesen hat. Es wurde wie Chelidonium entweder ins Duodenum oder in die Ohrvene eingebracht und diente bei den sich über Stunden hin erstreckenden Versuchen zur Kontrolle der Ansprechbarkeit der Leber auf sekretionsfördernde Mittel.

Ergebnisse.

Die Nachprüfung der von Stransky[15] vorgeschlagenen Methode zur Messung von in bestimmten Zeitabständen abgesonderten Gallemengen ergab, daß die Versuchsanordnung zur Untersuchung galletreibender Mittel

---

* Den Firmen Bürger, Wernigerode, Dr. Schwabe, Leipzig und Caesar und Loretz, Halle sei für die freundliche Überlassung von Versuchsmengen an dieser Stelle gedankt.

** Der Firma Riedel-de Haën, Berlin gebührt für das bereitwilligst zur Verfügung gestellte Decholin mein Dank.

[16] Neubauer, E.: Klin. Wschr. **2**, 1065 (1923).

brauchbar ist, da eine außerordentlich gleichmäßige Ausscheidung bei ein und demselben Kaninchen erfolgt. Als Beispiel hierfür ist das Versuchsprotokoll Nr. 1 wiedergegeben.

Versuchsprotokoll Nr. 1.

♀ Kaninchen, 2050 g. Narkose: 1,3 g/kg. Urethan peroral.

Abnahmezeit	Minuten	Menge in ccm	Abnahmezeit	Minuten	Menge in ccm
12^{45}—13^{05}	20	3,3	15^{45}—16^{05}	20	3,2
13^{05}—13^{25}	20	3,3	16^{05}—16^{25}	20	3,1
13^{25}—13^{45}	20	3,4	16^{25}—16^{45}	20	3,0
13^{45}—14^{05}	20	3,4	16^{45}—17^{05}	20	3,0
14^{05}—14^{25}	20	3,2	17^{05}—17^{25}	20	2,9
14^{25}—14^{45}	20	3,0	17^{25}—17^{45}	20	2,8
14^{45}—15^{05}	20	3,1	17^{45}—18^{05}	20	3,0
15^{05}—15^{25}	20	3,2	18^{05}—18^{25}	20	2,8
15^{25}—15^{45}	20	3,2	18^{25}—18^{45}	20	3,0

Der Gehalt der Galle an festen Bestandteilen wies innerhalb ein und desselben Versuchs kaum Schwankungen auf. Beim Vergleich aller angestellten Versuche untereinander lag der niedrigste Wert bei 1,2 %, der höchste bei 2,4 %. Als Durchschnitt wurde aus 32 Versuchen ein Trockengehalt von 1,7 % ermittelt.

Versuchsprotokoll Nr. 2.

♂ Kaninchen, 2320 g. Narkose: 1,35 g pro kg. Urethan peroral.

Abnahmezeit	Minuten	Menge in ccm
14^{30}—14^{45}	15	1,4
14^{45}—15^{00}	15	1,2
15^{00}—15^{15}	15	1,1
15^{15}—15^{30}	15	1,3
15^{30} 0,1 g/kg Decholin in 20 %iger Lösung intravenös		
15^{30}—15^{45}	15	5,4!
15^{45}—16^{00}	15	6,6!
16^{00}—16^{15}	15	3,8
16^{15}—16^{30}	15	2,1
16^{30}—16^{45}	15	1,1
16^{45}—17^{00}	15	1,2

Wie stark Decholin in Gaben von 0,05—0,2 g/kg bei intravenöser und von 0,1—0,3 g/kg bei intraduodenaler Einverleibung die Gallesekretion zu erhöhen vermag, zeigt Versuch Nr. 2.

Danach bewirkt also das Decholin einen Anstieg der Gallemenge bis zum Fünffachen des Ausgangswertes. In geringerem Maße war nach Decholin auch der Gehalt der Galle an festen Bestandteilen erhöht, der Mittelwert aus 16 Versuchen betrug 2,3 %.

Die eigentlichen Untersuchungen über das Schöllkraut wurden, wie erwähnt, in zwei Gruppen durchgeführt.

I.

Zunächst wurde der Einfluß auf die Sekretionstätigkeit der Leber bei ausgeschalteter Gallenblase geprüft. Ein charakteristisches Ergebnis zeigt das Versuchsprotokoll Nr. 3. In diesem Versuch wurde Chelidonysat verwandt.

Versuchsprotokoll Nr. 3.

♀ Kaninchen, 2540 g. Narkose: 1,2 g/kg. Urethan peroral.

Abnahmezeit	Minuten	Menge in ccm	Trocken-gehalt
13^{00}—13^{15}	15	2,8	
13^{15}—13^{30}	15	2,8	
13^{30}—13^{45}	15	2,8	1,4%
13^{45} 0,002 g/kg Frischkraut (Chelidonysat „Bürger") intraduodenal			
13^{45}—14^{00}	15	2,7	1,4%
14^{00}—14^{15}	15	2,7	
14^{15}—14^{30}	15	2,7	
14^{30} 0,01 g/kg Frischkraut (Chelidonysat) intraduodenal			
14^{30}—14^{45}	15	2,6	
14^{45}—15^{00}	15	2,7	
15^{00}—15^{15}	15	2,8	
15^{15} 0,05 g/kg Frischkraut (Chelidonysat) intraduodenal			
15^{15}—15^{30}	15	2,8	1,4%
15^{30}—15^{45}	15	2,8	
15^{45}—16^{00}	15	2,9	
16^{00} 0,25 g/kg Frischkraut (Chelidonysat) intraduodenal			
16^{00}—16^{15}	15	2,9	
16^{15}—16^{30}	15	2,6	
16^{30}—16^{45}	15	2,6	
16^{45}—17^{00}	15	2,8	
17^{00}—17^{15}	15	3,0	
17^{15} 0,5 g/kg Frischkraut (Chelidonysat) intraduodenal			
17^{15}—17^{30}	15	2,9	1,4%
17^{30}—17^{45}	15	3,0	
17^{45}—18^{00}	15	3,0	
18^{00}—18^{15}	15	3,0	
18^{15}—18^{30}	15	2,6	
18^{30}—18^{45}	15	2,5	
18^{45}—19^{00}	15	2,6	
19^{00} 0,2g/kg Decholin in 10%iger Lösung intraduodenal			
19^{00}—19^{15}	15	7,1	1,9%!
19^{15}—19^{30}	15	10,8	1,9%!
19^{30}—19^{45}	15	6,5	
19^{45}—20^{00}	15	6,4	
20^{00}—20^{15}	15	5,8	
20^{15}—20^{30}	15	4,8	

In gleicher Weise wurden in insgesamt 24 weiteren Versuchen geprüft: Rademachersche Tinktur, Stadachol, Chelidonium-Plantrit sowie Abkochungen und alkoholische Tinktur aus Trockenkraut. Bei keinem dieser Präparate zeigte sich ein galletreibender Effekt, weder bei intravenöser Zufuhr noch bei Einspritzung ins Duodenum. Die Protokolle stehen zur Einsichtnahme zur Verfügung. Von einer Veröffentlichung sehe ich aus

Ersparnisgründen ab, da sich in keinem der Versuche wesentliche Abweichungen von dem ausführlich wiedergegebenen Versuchsprotokoll Nr. 3 ergaben.

Ferner wurden die homöopathischen Schöllkrautverdünnungen D_2-D_6 untersucht. Sie enthalten die Inhaltstoffe frischer Wurzeln im Verhältnis 1 : 100 bis 1 : 1000000. Mit D_4 und D_6 wurden daher kleinste Gaben im Bereich von wenigen γ bis zu $^1/_{10}$-Milligrammen verabfolgt. Von einer galletreibenden Wirkung war auch hier nichts zu bemerken. Die normal abgesonderte Gallemenge betrug im Durchschnitt 2,9 ccm, der Trockengehalt 1,9%. Nach der Verabreichung der Mittel verschoben sich die durchschnittlichen Werte auf 2,2 ccm und 1,8%. Dem Einwand, daß der von den Tieren mit aufgenommene Alkohol geeignet ist, das Ergebnis störend zu beeinflussen, suchte ich durch einen blinden Versuch zu begegnen. In diesem wurde eine wesentliche Veränderung der Galleproduktion durch Alkohol allein nicht gefunden.

II.

Die zweite Serie der Versuche diente der Feststellung, ob sich die Galleabscheidung bei Beteiligung der Gallenblase unter Schöllkrautwirkung ändert. Den Tieren wurden also Choledochus- und Duodenalfistel bei durchgängigem Ductus cysticus angelegt. Es gelangten, mit Ausnahme der homöopathischen Verdünnungen, die gleichen Präparate zur Anwendung. Wie zu erwarten war, hatten sie weder bei intravenöser noch bei intraduodenaler Zufuhr einen fördernden Einfluß auf die abgegebenen Gallemengen. Von den Versuchen der ersten Gruppe unterschieden sich die der zweiten Reihe nur dadurch, daß die Galleportionen infolge der natürlichen Funktion der Gallenblase nicht so gleichmäßige Werte aufwiesen. Protokoll Nr. 4 bringt einen der insgesamt 11 angestellten Versuche zur Wiedergabe.

Aus den geschilderten Versuchen am Kaninchen mit akuter Choledochusfistel und mit teils unterbundenem, teils freiem Gallenblasengang ergibt sich abschließend, daß die geprüften Präparate aus frischem und getrocknetem Schöllkraut, unabhängig von der Art der Darreichung sowie von der Größe der Gaben, die Galleabsonderung nicht anzuregen vermögen, in höheren Dosen vielmehr die Ausscheidung der Galle beschränken. Die galletreibende Kraft des Decholins tritt demgegenüber stets prompt in Erscheinung.

Erörterung.

Nachdem neuerdings die Anwendung des Schöllkrauts als galletreibendes Mittel von klinischer Seite gefordert wird, mußte sich die Frage erheben, ob dies mit Recht geschieht.

Versuchsprotokoll Nr. 4.

♀ Kaninchen, 1850 g. Narkose: 1,3 g/kg. Urethan peroral.

Abnahmezeit	Minuten	Menge in ccm	Trockengehalt	Bemerkungen
$12^{45}-13^{00}$	15	2,7		
$13^{00}-13^{15}$	15	2,6		
$13^{15}-13^{30}$	15	2,6	1,2%	
13^{30} 0,0002 g/kg Trockenkraut (Decoctum Chelidonii 10%ig) intravenös				
$13^{30}-13^{45}$	15	2,5		
$13^{45}-14^{00}$	15	2,7		
$14^{00}-14^{15}$	15	2,8		
14^{15} 0,002 g/kg Trockenkraut (Decoctum Chelidonii) intravenös				
$14^{15}-14^{30}$	15	2,3	1,2%	
$14^{30}-14^{45}$	15	2,5		
$14^{45}-15^{00}$	15	2,9		
15^{00} 0,01 g/kg Trockenkraut (Decoctum Chelidonii) intravenös				
$15^{00}-15^{15}$	15	2,9	1,3%	
$15^{15}-15^{30}$	15	3,0		
$15^{30}-15^{45}$	15	3,7		Reflektorische Preßbewegungen
15^{45} 0,01 g/kg Trockenkraut (Decoctum Chelidonii) intravenös				
$15^{45}-16^{00}$	15	3,1		
$16^{00}-16^{15}$	15	3,2		
$16^{15}-16^{30}$	15	3,0		
16^{30} 0,05 g/kg Trockenkraut (Decoctum Chelidonii) intravenös				
$16^{30}-16^{45}$	15	2,9	1,2%	Beschleunigte Atmung während der Einspritzung
$16^{45}-17^{00}$	15	3,1		
$17^{00}-17^{15}$	15	3,2		
$17^{15}-17^{30}$	15	2,9		
17^{30} 0,25 g/kg Trockenkraut (Decoctum Chelidonii) intravenös				
$17^{30}-17^{45}$	15	2,0	1,4%	Unter der Injektion beschleunigte und erschwerte Atmung
$17^{45}-18^{00}$	15	2,4		
$18^{00}-18^{15}$	15	2,3		
$18^{15}-18^{30}$	15	2,2		Erschwerte Atmung
$18^{30}-18^{45}$	15	1,9		
18^{45} 0,1 g/kg Decholin in 10%iger Lösung intravenös				
$18^{45}-19^{00}$	15	8,0	2,0%!	
$19^{00}-19^{15}$	15	4,0		
$19^{15}-19^{30}$	15	3,0		
$19^{30}-19^{45}$	15	2,4		Wieder schnelle und erschwerte Atmung beginnend
$19^{45}-20^{00}$	15	2,1		
$20^{00}-20^{15}$	15	1,9		Exitus let. 21^{20} (Atemstillstand)

Betrachtet man die Veröffentlichungen, die für eine solche Verwertung des Schöllkrauts heranzuziehen sind, so will es scheinen, als ob diese Arbeiten doch wohl mehr klinische Eindrücke wiedergeben und einstweilen keine ausreichende Begründung für die aus ihnen gezogenen praktischen Schluß-

folgerungen bieten. Insbesondere fällt sogleich der Mangel an Tierexperimenten ins Auge, die für die Entscheidung derartiger Fragen immer wünschenswert sind.

Die Befunde des Laboratoriums Merck[12] und die hier vorgelegten Untersuchungen zeigen, daß Schöllkraut weder die Sekretion und Austreibung der Galle zu fördern noch ihren Gehalt an festen Bestandteilen zu erhöhen imstande ist, sondern daß in bestimmtem Bereich und bei Häufung der Gaben eher eine Verminderung der produzierten Gallemengen und ihres Trockenrückstandes eintritt.

Zur Erklärung des negativen Ausfalles der Versuche können die Arbeiten von Anan[6], Hanzlik[7] und Merck[12] als Unterlagen dienen, die über die allgemeinen Wirkungen des Hauptalkaloids Chelidonin und des Gesamtextraktes aus Schöllkraut Aufschluß geben. Danach wird der Hauptangriffspunkt des Schöllkrauts in die glatte Muskulatur verlegt, deren Tonus bis zur vollständigen Lähmung herabgesetzt werden kann. Diese Tonusherabsetzung könnte in der Leber sowohl die Gefäße wie auch die Gallengänge betreffen. Beides müßte die Galleabscheidung ungünstig beeinflussen. Ferner ist damit zu rechnen, daß die Leberzellen durch die Schöllkrautgifte und sekundär infolge der Ernährungsstörung geschädigt werden. Anhaltspunkte für diese Gedankengänge bilden die bei der Sektion mit Schöllkraut vergifteter Tiere erhobenen Befunde von dunkelroter, vergrößerter Leber und ein Bericht von Koopmann[17] über eine tödlich verlaufene Schöllkrautvergiftung am Menschen, bei der u. a. acholischer Stuhl und Verfettung der Leber mit feinkörniger, fettiger Degeneration der einzelnen Zellen beobachtet wurde.

Eine schlechte Durchblutung der Leber bei gleichzeitiger Parenchymschädigung und Erschlaffung der Muskulatur der Gallengänge kann sicher nicht zu einer Zunahme der Gallemengen oder ihres Trockengehaltes führen.

Es mögen zum Schluß noch kurz die durch Schöllkraut verursachten Nebenerscheinungen erwähnt werden. Diese lassen sich bei der intravenösen Injektion gut verfolgen und bestehen, abgesehen von der Schädigung des Kreislaufs, in stark beschleunigter, später verlangsamter und erschwerter Atmung. Alsdann wird ein Zustand sichtbar, der dem Bilde des Cheyne-Stokesschen Atemtyps am Menschen nahekommt. Die Atmung stockt für kurze Zeit, bis unter krampfhafter Anstrengung aller Atemmuskeln ein vertiefter Atemzug erfolgt. Bei weiterer Verlängerung der Atempausen tritt dann der Tod der Tiere ein. Derartige Beobachtungen konnten in vielen Fällen gemacht werden. Sie lassen zum Schluß die Frage aufwerfen, ob nicht auch bei der Anwendung des Schöllkrauts am Menschen solche Störungen des Kreislaufs und der Atmung zu befürchten sind, und mahnen zur Vorsicht.

[15] Koopmann, H.: Slg Vergift.fälle **8**, A 682, 93 (1937).

FEB 8 1949

Zusammenfassung.

1. Die Brauchbarkeit der von Stransky angegebenen Methode der akuten Choledochusfistel zur Wertbestimmung galletreibender Mittel am Kaninchen wird bestätigt.

2. Die Untersuchungen der Frischkrautpräparate Rademachersche Tinktur, Chelidonysat, Stadachol, Chelidonium-Plantrit und Chelidonium D_2—D_6 sowie der Droge in Form von Dekokt und Tinktur ergaben bei intravenöser und intraduodenaler Zufuhr trotz eines weit gesteckten Dosierungsgebietes die Wirkungslosigkeit des Schöllkrauts als Cholagogum, weder mengen- noch gehaltsmäßig war eine Vermehrung der Galle festzustellen.

3. Große oder gehäufte Gaben von Schöllkraut führten zu einer Einschränkung der Gallesekretion.

4. Auf die Möglichkeit schädlicher Wirkungen des Schöllkrauts bei der Anwendung am Menschen wird hingewiesen.

Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für medizinische Forschung Heidelberg, Institut für Pathologie. (Stellv. Direktor: Prof. Dr. R. Kuhn.)

Phlorrhizin und Zellatmung*.

II. Mitteilung.

Von

R. Wetzel und **R. von Zitzewitz.**

(Eingegangen am 22. Februar 1940.)

In früheren Untersuchungen [1] konnte gezeigt werden, daß Phlorrhizin neben einer allgemeinen Herabsetzung der Zellatmung die Kohlehydratverbrennung in Leberschnitten fast völlig hemmt. Der Nachweis gelang an Lebergewebe von kohlehydratreich ernährten weißen Ratten und im direkten Zusatzversuch mit Lävulose, nicht jedoch mit Glucose, da sich durch Glucosezusatz weder an der Leber noch am Zwerchfell Steigerungen der Atmung und des respiratorischen Quotienten erzielen ließen. In einer kürzlich erschienenen Arbeit wurde von H. Nothdurft [2] berichtet, daß man an Zwerchfellschnitten von Ratten deutliche Atmungssteigerungen durch Glucose hervorrufen kann, wenn man die Tiere vor dem Versuch längere Zeit (mindestens 5 Tage) hungern läßt. Wir haben daher um die Wirkung des Phlorrhizins auf die Veratmung direkt zugesetzter Glucose zu prüfen, nochmals Versuche mit länger hungernden Ratten angestellt.

Zur weiteren Aufklärung der Phlorrhizinwirkung schienen uns ferner Versuche an cyanvergiftetem Gewebe notwendig. Die Größe der cyanresistenten Restatmung schwankt je nach Vorbehandlung des Gewebes und der verwendeten Ringerlösung zwischen 0 und 30% [3]. In Phosphatringer wird sie von Kisch [4] und Dixon und Elliot [5] für Lebergewebe zwischen 20 und 30% angegeben. Da die von uns beobachtete Hemmung der Leberatmung durch Phlorrhizin in denselben Grenzen schwankte, lag es nahe, an eine Beziehung zum cyanresistenten Anteil der Gesamtatmung zu denken.

Methodik.

Als Versuchstiere dienten weiße, männliche Ratten von 150—200 g Gewicht aus eigener Zucht, die 3—4 Wochen vor dem Versuch mit einer gleichmäßigen Kuchennahrung ernährt wurden [6]. Die als Hungertiere

* D 16.

[1] Wetzel, R., u. C. Meadows: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 192 (1937). — [2] Nothdurft, H.: Pflügers Arch. **238**, 567 (1937). — [3] Alt, H. L.: Biochem. Z. **221**, 498 (1930). — [4] Kisch, B.: Ebenda **263**, 75 (1933). — [5] Dixon, M., u. K. A. C. Elliot: Biochem. J. **23**, 812 (1929). — [6] Genauere Angaben in der Arbeit von Wetzel, Wollschitt, Ruska u. Oestreicher: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 86 (1935).

bezeichneten Ratten blieben 5–9 Tage vor der Tötung ohne Nahrung. Die kohlehydraternährten Tiere wurden 7 Tage mit Milchreis und Zucker gefüttert, die fettreich ernährten erhielten 5–6 Tage leicht angebratenen Spickspeck, die eiweißernährten Tiere 7 Tage reines Trockenfleisch.

Die Gewebeatmung wurde wie früher nach Dickens und Simer[7] gemessen. In den Versuchen mit KCN-Zusatz wurde bei der CO_2-Bestimmung die Blausäure beim Ansäuern der Gewebssuspension mit ausgetrieben. Der dadurch bedingte zusätzliche Druckanstieg wurde in einem Leerversuch mit gleichem KCN-Zusatz bestimmt und bei der Berechnung des Kohlensäurevolumens vom Gesamtvolumen in Abzug gebracht. Um eine ausreichende Säuerung der KCN-haltigen Gewebsflüssigkeit zu erzielen, wurde der Anhang der Atmungströge mit 0.5 ccm 40%iger Citronensäure beschickt.

Zur Bestimmung des Glykogens wurden entsprechende Anteile der Leber und des Zwerchfells in flüssiger Luft eingefroren und wie früher beschrieben[8], verarbeitet.

Ergebnisse.

1. Versuche mit Glucosezusatz an Leberschnitten (Hungertiere).

Es fand sich in allen Versuchen ein gegenüber Normal- bzw. 24 Stunden-Hungertieren[9] deutlich herabgesetzter Sauerstoffverbrauch, als Folge der im Hunger allgemein herabgesetzten Verbrennungsprozesse. Auffallend tief wurden ferner die respiratorischen Quotienten gefunden, für die sich ein Mittelwert von 0,57 errechnet. Um die von Nothdurft angenommene Abhängigkeit der durch Glucosezusatz gesteigerten Atmung vom Kohlehydratgehalt der Gewebe zu prüfen, haben wir bei einer Reihe von Tieren den Leber- und Zwerchfell-Glykogengehalt bestimmt. Es fanden sich dabei durchweg höhere Werte als man sie bei kurz dauerndem Hunger findet. Wie in früheren Arbeiten aus dem Institut[10] gezeigt werden konnte, nimmt das Leberglykogen während des ersten Hungertages sehr rasch ab, um dann gegen Ende des Hungers wieder langsam anzusteigen. Wir erklärten uns diese Zunahme durch die sich allmählich steigernde Funktion der Leber, Kohlehydrate aus Fett bzw. Eiweiß neu zu bilden. Die auffallend tiefen respiratorischen Quotienten sprechen ganz in diesem Sinne. Daß trotz Bildung neuer Glykogendepots in der Leber kein erhöhter Kohlehydratumsatz stattfindet, möchten wir so deuten, daß das neugebildete Glykogen ausschließlich der Aufrechterhaltung des Blutzuckerspiegels dient.

Durch Zusatz von Glucose ließ sich in fast allen Fällen eine Steigerung der Atmung und des respiratorischen Quotienten erzielen (Mittel 15%).

---

[7] Dickens, F., u. F. Simer: Abderhaldens Handbuch der biol. Arbeitsmeth. IV, T 13. — [8] Wetzel, R. u. a.: l. c. — [9] Wetzel, R., u. C. Meadows: l. c., S. 439. — [10] Wetzel, R., H. Wollschitt, H. Ruska u. Th. Oestreicher: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 703 (1935).

Tabelle 1.

Ratte Nr.	Hungerzeit in Tagen	Gewicht in g	Zusätze zur Ringerlösung	T_{QO_2}	RQ	Glykogen in % des Frisch-gewichts
785	6	145	—	3,71	0,54	—
			0,2% Glucose	5,30	0,63	
787	7	142	—	5,37	0,51	—
			0,2% Glucose	6,15	0,62	
776	9	163	—	5,10	0,52	
			0,2% Glucose	5,77	0,62	
818	9	150	—	5,69	0,63	2,84
			0,2% Glucose	6,27	0,73	
838	5	129	—	6,30	0,60	1,33
			0,2% Glucose	8,35	0,66	
837	7	130	—	4,36	0,60	0,90
			0,2% Glucose	5,02	0,75	
841	4	140	—	5,51	0,54	1,04
			0,2% Glucose	5,58	0,55	
850	$4^1/_2$	123	—	5,00	0,65	1,21
			0,2% Glucose	5,50	0,72	
	Mittelwerte		ohne Zusatz	5,21	0,57	1,46
			0,2% Glucose	5,99	0,66	
				+ 15%	+ 16%	

Der respiratorische Quotient, der sich aus der Sauerstoffmehratmung und der zusätzlichen CO_2-Bildung errechnet, beträgt 1,20, was dafür spricht, daß die Steigerung des Sauerstoffverbrauchs durch die Oxydation der zugesetzten Glucose bedingt wird.

2. Versuche mit Glucosezusatz am Zwerchfell (Hungertiere).

Die Atmungswerte sind hier gegenüber Normaltieren nicht wesentlich erniedrigt. Bei Zusatz von Glucose steigen Atmung und respiratorischer Quotient um etwa 15%. Auch hier spricht der RQ der zusätzlichen Atmung (1,34) für eine totale Verbrennung der Glucose. Die Befunde von Nothdurft bestätigen sich daher durch unsere Versuche, wenn es auch unwahrscheinlich ist, daß die Atmungssteigerung, wie Nothdurft annimmt, eine Folge der stärkeren Kohlehydratverarmung der Gewebe ist. Dagegen sprechen jedenfalls die relativ hohen Leberglykogenwerte, die wir in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen bei unseren Tieren fanden. Das Muskelglykogen zeigt demgegenüber ein etwas anderes Verhalten. Es nimmt während des Hungers nur sehr allmählich ab. Immerhin sind aber die von uns bei 7—9 Tage Hunger noch gefundenen Werte so hoch, daß sie zur Bestreitung der Gewebeatmung vollständig ausreichen dürften, wenn man berücksichtigt, daß pro Gewebeschnitt bei reiner Kohlehydratverbrennung in der Stunde nur 0,05 mg Zucker veratmet werden, das sind bei einem Glykogengehalt von 0,2 mg nur 25%.

Tabelle 2.

Ratte Nr.	Hungerzeit in Tagen	Gewicht in g	Zusätze zur Ringerlösung	T_{QO_2}	RQ	Glykogen in % des Frisch-gewichts
785	6	145	—	4,80	0,70	
			0,2% Glucose	5,13	0,81	
787	7	142	—	5,20	—	
			0,2% Glucose	5,90	—	
176	9	163	—	3,60	0,61	
			0,2% Glucose	4,75	0,69	
818	9	150	—	4,73	0,77	0,384
			0,2% Glucose	6,00	0,84	
838	5	129	—	5,43	0,67	0,285
			0,2% Glucose	6,37	0,87	
837	7	130	—	5,24	0,73	0,294
			0,2% Glucose	6,29	0,82	
841	4	140	—	4,70	0,63	0,382
			0,2% Glucose	5,30	0,69	
850	$4^1/_2$	123	—	5,18	0,72	0,340
			0,2% Glucose	5,75	0,80	
	Mittelwerte		ohne Zusatz	4,86	0,69	0,337
			0,2% Glucose	5,69	0,79	
				+ 17%	+ 15%	

3. Versuche mit Phlorrhizinzusatz.

Durch Zusatz von Phlorrhizin ließ sich in allen Fällen eine starke Hemmung der Atmung erzielen, die deutlich stärker war als ihr durch Glucosezusatz gesteigerter Anteil. Daß dieser mitgehemmt ist, geht aus dem deutlichen Absinken des respiratorischen Quotienten hervor, der bei der Leber etwa die Werte ohne Zusatz erreicht, beim Zwerchfell diese sogar noch unterschreitet. Die durch Glucosezusatz gesteigerte Verbrennung von Kohlehydraten wird daher durch Phlorrhizin vollständig gehemmt.

Tabelle 3. Leber.

Ratte Nr.	Hungerzeit in Tagen	Gewicht in g	Zusätze zur Ringerlösung	T_{QO_2}	RQ
839	6	175	0,2% Glucose	5,75	0,74
			0,2% Glucose + Phlorrhizin $^1/_{500}$ mol.	4,24	0,60
848	6	125	0,2% Glucose	5,35	0,67
			0,2% Glucose + Phlorrhizin $^1/_{500}$ mol.	3,91	0,60
851	7	110	—	5,15	0,63
			0,2% Glucose	5,60	0,75
			0,2% Glucose + Phlorrhizin $^1/_{500}$ mol.	3,90	0,51
	Mittelwerte		0,2% Glucose	5,50	0,72
			0,2% Glucose + Phlorrhizin $^1/_{500}$ mol.	4,02	0,57
				(− 27%)	

Tabelle 4. Zwerchfell.

Ratte Nr.	Hungerzeit in Tagen	Gewicht in g	Zusätze zur Ringerlösung	T_{QO_2}	RQ
839	6	175	0,2% Glucose	5,23	0,72
			0,2% Glucose + Phlorrhizin $^1/_{500}$ mol.	4,00	0,54
848	6	125	0,2% Glucose	6,56	0,89
			0,2% Glucose + Phlorrhizin $^1/_{500}$ mol.	4,48	0,59
851	7	110	—	5,00	0,63
			0,2% Glucose	5,50	0,72
			0,2% Glucose + Phlorrhizin $^1/_{500}$ mol.	3,81	0,51
	Mittelwerte		0,2% Glucose	5,76	0,78
			0,2% Glucose + Phlorrhizin $^1/_{500}$ mol.	4,10 (– 29%)	0,55

4. Versuche an cyanvergifteten Leberschnitten.

Es wurden nur wenige Versuche mit m/100 HCN-Konzentrationen ausgeführt, da die großen Blausäuremengen, die bei der CO_2-Bestimmung durch Ansäuern aus der Gewebsflüssigkeit ausgetrieben werden, eine exakte Bestimmung der geringen CO_2-Mengen sehr erschwerten. Die meisten Versuche sind daher mit m/1000 HCN-Konzentrationen ausgeführt worden. Die Restatmung erwies sich trotz der Konzentrationsunterschiede als sehr konstant, so daß angenommen werden kann, daß schon bei $^1/_{1000}$ mol. Blausäurekonzentrationen eine vollständige Hemmung des Häminsystems eintritt. Die prozentuale Hemmung ist in den Versuchen mit m/100 KCN-Konzentration nur scheinbar geringer, weil die Normalatmung in diesen Versuchen aus unbekannten Gründen auffallend tief gefunden wurde. Verglichen mit den Restatmungswerten anderer Autoren (Dixon und Elliot, Kisch) liegen unsere Werte tiefer. Sie entsprechen den Werten, die Kisch unter den von Warburg[11] vorgeschriebenen Bedingungen in Carbonatringer fand[12], trotzdem wir unsere Schnitte in Phosphatringer atmen ließen, der nach Warburg das Atmungsferment schädigen soll.

Die niedrigsten Absolutwerte fanden wir bei den fetternährten und Hungertieren, die jedoch bei Berücksichtigung ihrer stark herabgesetzten Normalatmung die relativ höchste prozentische Restatmung aufwiesen. Nach Untersuchungen von Krebs[13] und Kisch[14] soll die Höhe der cyanresistenten Atmung davon abhängen, welche Substanzen in der Zelle durch ihre Oxydation den Sauerstoffverbrauch bedingen. So soll die Veratmung von Kohlehydraten völlig cyanresistent sein, während Aminosäuren und Fettsäuren auch auf dem Wege der sogenannten Nebenatmung oxydiert werden können. Aus unseren Versuchen ließ sich kein Anhalt darüber gewinnen, daß der vermehrte Umsatz von Fettsäuren, der aus den tiefen respiratorischen Quotienten der fetternährten Tiere geschlossen

[11] Warburg, O.: Biochem. Z. **231**, 439 (1931). — [12] Kisch, B.: l. c. — [13] Krebs, H. A.: Klin. Wschr. **11**, 1744 (1932). — [14] Kisch, B.: l. c.

werden konnte, eine Steigerung der Restatmung zur Folge hatte. Die Restatmung war hier sogar etwas kleiner als in den kohlehydratreichen Leberschnitten. Ebensowenig konnte bei den eiweißernährten Tieren eine erhöhte Restatmung gefunden werden. Die Kohlensäurebildung war durchweg höher als der Sauerstoffverbrauch, so daß die respiratorischen Quotienten weit über 1 lagen. Da eine Kohlensäurefreimachung aus dem Bicarbonat des Serums durch Glykolyse bei der Phosphatmethode von Dickens und Simer sicher ausgeschlossen werden kann, und andererseits eine Kohlehydratbildung aus Fett, die so hohe respiratorische Quotienten erklären könnte, bei unseren Versuchsbedingungen nicht wahrscheinlich ist, ist anzunehmen, daß ein Teil der Prozesse in der Zelle, die zur Bildung von Atmungskohlensäure führen, cyanresistent sind. Da über die Kohlensäurebildung der Restatmung noch keine Literaturbelege vorliegen und unsere wenigen in dieser Richtung durchgeführten Versuche eine sichere Beurteilung der Verhältnisse nicht zulassen, beabsichtigen wir, diese Untersuchungen fortzuführen.

Die Versuche mit Phlorrhizinzusatz ließen eindeutig erkennen, daß die Restatmung durch Phlorrhizin nicht vollständig hemmbar ist. Die Hemmung lag etwa in derselben Größenordnung, wie sie für die Gesamtatmung ge-

Tabelle 5.

Tier Nr.	Art der Vorbehandlung	Normal		KCN		Restatmung in % der N.A.	KCN + Phlorrhizin		Phlorrhizinkonzentration
		T_{QO_2}	RQ	T_{QO_2}	RQ		T_{QO_2}	RQ	
852	7 Tage Hunger	3,59	0,75	0,60	—	17	0,40	—	m/100
854	7 „ „	4,50	0,60	0,71	—	16	0,48	—	m/100
991	5 „ „	6,45	0,60	0,90	—	14	0,73	—	m/1000
993	5 „ „	6,50	0,59	0,90	2,5	14	0,73	2,6	m/1000
	Mittelwerte:	5,26	0,64	0,78	2,5	15	0,59	2,6	
853	Kh.-reiche Ernährung	7,06	0,88	1,13	—	16	0,85	—	m/100
856	„ „	6,50	—	1,12	—	17	1,20	—	m/100
995	„ „	8,75	0,88	1,00	2,6	11	0,92	2,4	m/1000
990	„ „	8,95	0,87	1,16	2,4	13	0,82	2,5	m/1000
1004	„ „	8,84	0,88	1,14	1,5	13	0,86	1,2	m/1000
1003	„ „	8,90	0,88	1,15	1,3	13	0,87	1,2	m/1000
	Mittelwerte:	8,17	0,88	1,12	2,0	14	0,92	1,8	
970	Fettreiche Ernährung	7,38	0,70	0,78	—	11	0,65	—	m/1000
992	„ „	7,05	0,60	0,63	—	9	0,51	—	m/1000
1020	„ „	7,33	0,78	0,78	3,2	11	0,68	3,5	m/1000
1019	„ „	7,28	0,82	0,80	3,0	11	0,71	2,4	m/1000
	Mittelwerte:	7,26	0,73	0,75	3,1	11	0,64	3,0	
997	Eiweißreiche Ernährung	9,20	0,85	0,79	1,7	9	0,40	1,8	m/1000
998	„ „	9,35	0,88	1,00	1,6	9	0,49	2,4	m/1000
999	„ „	9,05	0,87	0,83	1,6	10	0,43	2,6	m/1000
1000	„ „	9,30	0,91	0,99	1,2	11	0,50	2,4	m/1000
	Mittelwerte:	9,23	0,88	0,90	1,5	10	0,45	2,3	

funden wurde. Nur bei den eiweißernährten Tieren war sie erheblich höher. Die respiratorischen Quotienten der Restatmung wurden durch Phlorrhizin nur geringfügig beeinflußt. Man kann daraus schließen, daß die Kohlensäure der Restatmung, sofern sie aus dem Umsatz von Kohlehydraten stammt, auf Abbauwegen entsteht, die jenseits des Angriffspunktes des Phlorrhizins liegen, also jenseits der Phosphorylose des Glykogens, die Phlorrhizin in erster Linie hemmt. Als Brennstoffe für diese Prozesse kommen phosphorylierte Zucker in Frage, die bekanntlich über das l. gelbe Atmungsferment umsetzbar sind, sowie Trioseverbindungen, von denen wir am Beispiel der Milchsäure in früheren Versuchen[15] zeigen konnten, daß ihre Verbrennung durch Phlorrhizin nicht hemmbar ist.

[15] Wetzel, R., u. C. Meadows: l. c.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Der Einfluß verschiedener Narkotica und des Harnstoffs auf die Aktivität der Cholinesterase des Blutes*.

Von

F. Heim und **A. Fahr.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. Februar 1940.)

Durch die Untersuchungen von Löwi[1], Dale und Mitarbeitern[2], Gremels[3], Gremels und Zinnitz[4] u. a. konnte gezeigt werden, daß das Azetylcholin als der chemische Überträgerstoff der Vaguswirkung anzusehen ist. Denn fast sämtliche bei einer Vaguswirkung zu beobachtenden Symptome lassen sich in gleicher Weise durch Azetylcholin hervorrufen. Außerdem konnte in einzelnen Organen bei Vagusreizung das Freiwerden von Azetylcholin direkt nachgewiesen werden. Löwi und Navratil[5] haben den Nachweis gebracht, daß das Azetylcholin durch ein im Blute und Organgewebe vorhandenes Ferment, die sogenannte Cholinesterase, hydrolytisch gespalten und damit unwirksam wird. Hunt[6] und Führer[7] haben als erste im Physostigmin einen Stoff gefunden, der auf die Aktivität dieses Ferments einen spezifischen, und zwar einen hemmenden Einfluß ausübt. Gremels[8] und Zinnitz[9] konnten zeigen, daß die Wirkung des Azetylcholins infolge verminderter Zerstörung in Gegenwart von Physostigmin nicht nur verstärkt, sondern vor allem verlängert ist.

Es sind uns heute eine große Zahl chemischer Substanzen bekannt, deren pharmakologische und toxikologische Wirkung entweder ganz oder doch teilweise auf einer Beeinflussung fermentativer Vorgänge beruht. Es ist daher nicht unwichtig zu untersuchen, inwieweit diese pharmakologisch wirksamen Substanzen auch die Aktivität der Cholinesterase zu beeinflussen vermögen, indem sie entweder einen aktivierenden Einfluß auf das Esteraseferment ausüben und somit den Abbau des Azetylcholins beschleunigen, oder aber auf das Ferment — gleich dem Physostigmin — hemmend wirken.

In folgender Arbeit wurden einige Pharmaca, von denen ein Einfluß auf die Aktivität der Cholinesterase zu erwarten war, untersucht. Es

---

* D 4.

[1] Pflügers Arch. **189**, 239 (1921); **193**, 201 (1922). — [2] Brit. med. J. 1934. — [3] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 625 (1937). — [4] Ebenda **188**, 79 (1937). — [5] Arch. f. d. ges. Physiol. **214**, 678 (1926). — [6] J. Pharmacol. **7**, 301 (1915). — [7] Biochem. Z. **92**, 347 (1918). — [8] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 360 (1935). — [9] Ebenda **182**, 340 (1936).

handelt sich um einige Körper aus der Gruppe der Narkotica, und zwar um das Chloralhydrat, Urethan, Evipan-Natrium, Veronal-Natrium, Amylalkohol, Äthylalkohol und weiterhin um den Harnstoff. Es wurden die eben genannten Substanzen deshalb gewählt, weil durch neuere Untersuchungen des einen von uns (Heim [10]) gerade für diese Substanzen gezeigt werden konnte, daß ihre pharmakologische Wirkung im wesentlichen durch eine Änderung des physikalisch-chemischen Zustandes der Organkolloide zustande kommt. Es besteht deshalb durchaus die Möglichkeit, daß der Einfluß dieser Stoffe auf Fermente darin besteht, daß auch die Fermentkolloide eine Änderung ihres physikalisch-chemischen Zustandes in Gegenwart dieser Stoffe erfahren.

Methodik.

Die Methode beruht im Prinzip darauf, daß mittlere Dosen von Azetylcholin einer Katze intravenös injiziert, eine von der injizierten Azetylcholinmenge abhängige Senkung des arteriellen Drucks verursachen. Die Versuche wurden an Blutdruckkatzen ausgeführt. Als Narkoticum wurde Chloralose verwendet, und zwar 80 mg pro kg Tier. Im einzelnen wurde folgendermaßen verfahren: in mehrere kleine Glasschälchen wurden je 0,1 ccm der Blutdruckkatze entnommenen arteriellen Blutes gegeben, das durch Zusatz von 0,4% Natriumcitrat ungerinnbar gemacht wurde. Ein Glasschälchen diente als Kontrollversuch, zu den übrigen wurde das Narkoticum bzw. der Harnstoff in steigenden Konzentrationen hinzugesetzt. Da die Narkotica bzw. der Harnstoff in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst worden waren, wurde durch die Zugabe dieser Stoffe das Blut auf die Hälfte verdünnt. Sämtliche Schälchen wurden 20 Minuten im Brutschrank bei 37° belassen und daraufhin im zeitlichen Abstand von 3 Minuten mit einer bestimmten Menge (1—3 γ) Azetylcholin beschickt. Die in 0,1 ccm Blut enthaltene Cholinesterase ließen wir in allen Versuchen 10 Minuten auf das zugesetzte Azetylcholin einwirken. Nach Ablauf der 10 Minuten wurde der Inhalt der Schälchen in der gleichen zeitlichen Reihenfolge, in der das Azetylcholin zugesetzt wurde, der Katze intravenös injiziert. Der Grad der dabei auftretenden Blutdrucksenkung entspricht der von der Blutesterase nicht zerstörten, also nach 10 Minuten noch vorhandenen physiologisch wirksamen Azetylcholinmenge. Sollte aber der Einfluß einer der zu untersuchenden Substanzen auf den zeitlichen Ablauf der Fermentreaktion genauer untersucht werden, so wurden zu 0,5 ccm Blut 5—15 γ Azetylcholin zugesetzt und nun im Abstand von 3 Minuten je 0,1 ccm des Blutazetylcholingemisches injiziert. Der Grad der dabei auftretenden Blutdrucksenkung ist ein Maß für die nach 3 bzw. 6 bzw. 9 bzw. 12 Minuten noch unzerstört im Blute vorhandenen Azetyl-

[10] Biochem. Z. **291**, 88 (1937); Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 212 (1938); **191**, 226 (1938); **191**, 581 (1939); **192**, 1 (1939); **192**, 276 (1939).

cholinmenge. Daraufhin wurde der gleiche Versuch gemacht, nachdem man 20 Minuten vor Zugabe des Azetylcholins zum Blute die zu untersuchende Substanz in bestimmter Konzentration zugesetzt hatte.

Versuche.

Aus der in Abb. 1 wiedergegebenen Blutdruckkurve ist der Einfluß zu ersehen, den das Chloralhydrat auf die fermentative Zerstörung des Azetylcholins durch die Cholinesterase des Blutes ausübt. In diesem Versuch wurden zu je 0,1 ccm Blut — mit Ausnahme des Kontrollversuchs — Chloralhydratmengen von 12,5—200 γ zugesetzt. Wie aus der Abbildung zu ersehen ist, senkt die Kontrolle den arteriellen Druck nur um 10 mm Hg. Es wurde also im Kontrollversuch innerhalb 10 Minuten nahezu das ganze zugesetzte Azetylcholin durch die in 0,1 ccm Blut enthaltene Esterase zerstört und damit unwirksam gemacht. Bereits der Zusatz von 12,5 γ Chloralhydrat zu 0,1 ccm Blut hemmt die Aktivität der Cholinesterase in hohem Maße. Die blutdrucksenkende Wirkung der nach 10 Minuten noch vorhandenen Azetylcholinmenge beträgt 35 mm Hg. Mit steigenden Konzentrationen nimmt der fermenthemmende Einfluß weiter zu.

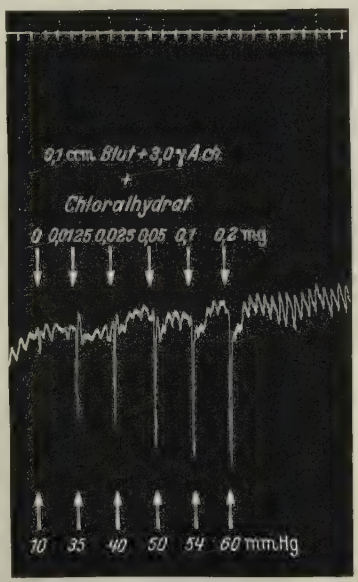


Abb. 1.

Abb. 2 gewährt einen genaueren Einblick in den zeitlichen Ablauf der Fermentreaktion zwischen der Cholinesterase und dem Azetylcholin. Die erste Hälfte der Abbildung zeigt den normalen zeitlichen Ablauf der fermentativen Veresterung des Azetylcholins durch das Blut. 3 Minuten nach Zusatz von 2 γ Azetylcholin zu 0,1 ccm Blut ist noch unzerstörtes Azetylcholin nachweisbar. Doch bereits nach 6 Minuten ist das zugesetzte Azetylcholin nahezu ganz zerstört. Nach 9 Minuten ist Azetylcholin nicht mehr nachweisbar. In Gegenwart von 40 γ Chloralhydrat dagegen ist der fermentative Abbau des Azetylcholins so stark verzögert, daß nicht nur nach 9, sondern selbst noch nach 15 Minuten unzerstörtes Azetylcholin nachzuweisen ist.

Von den weiteren in ihrer Wirkung auf das Esteraseferment des Blutes untersuchten Narkotica zeigt das Evipan-Natrium ein dem Chloralhydrat ähnliches Verhalten. Es übt bereits der Zusatz von 12,5 γ Evipan-Natrium zu 0,1 ccm Blut einen hemmenden Einfluß auf die Cholinesterase aus. Mit

Erhöhung der Konzentrationen an Evipan-Natrium geht auch eine entsprechend stärkere Hemmung der Fermentreaktion einher.

Während Chloralhydrat und Evipan-Natrium in allen von uns untersuchten Konzentrationen (Chloralhydrat 12,5—200 γ, Evipan-Natrium 12,5—800 γ in 0,1 ccm Blut) die Aktivität der Cholinesterase im hemmenden Sinne beeinflussen und dieser Einfluß mit Erhöhung der Konzentration

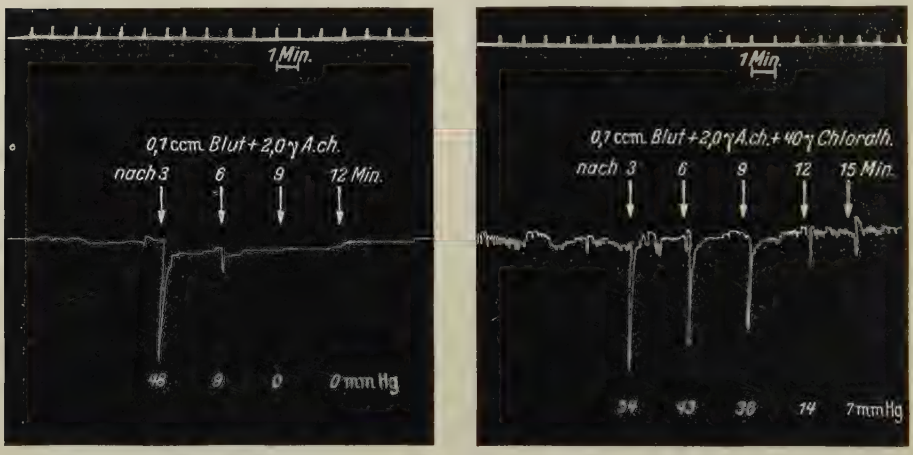


Abb. 2.

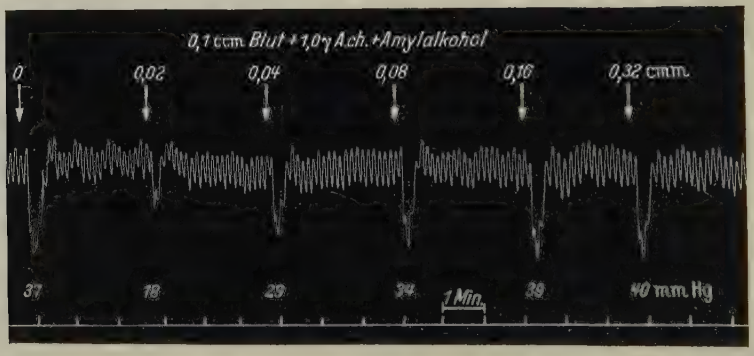


Abb. 3.

der betreffenden Narkotica im Blute entsprechend zunimmt, bewirken die nun zu besprechenden Narkotica in niedrigen Konzentrationen eine Aktivierung der Cholinesterase und üben einen hemmenden Einfluß auf das Ferment erst in höheren Konzentrationen aus.

In Gegenwart von 12,5—50 γ Urethan in 0,1 ccm Blut wird Azetylcholin rascher zerstört als im Kontrollversuch. Diese niedrigen Urethankonzentrationen wirken also fermentaktivierend. Höhere Konzentrationen dagegen (0,1—1,6 mg in 0,1 ccm Blut) üben schon einen hemmenden

Einfluß auf den fermentativen Abbau des Azetylcholins aus. Die fermenthemmende Wirkung nimmt mit Erhöhung der Konzentrationen sehr stark zu.

Veronal-Natrium wirkt noch in auffallend hohen Konzentrationen aktivierend auf das Esteraseferment. Die Anwesenheit von 12,5 γ—400 γ in 0,1 ccm Blut bewirkt einen beschleunigten fermentativen Abbau des Azetylcholins. Durch noch größere Dosen dagegen wird das Ferment gehemmt.

Amylalkohol wirkt in einem Konzentrationsbereich von 0,02 –0,08 % in 0,1 ccm Blut fermentaktivierend, während Konzentrationen von 0,16 %

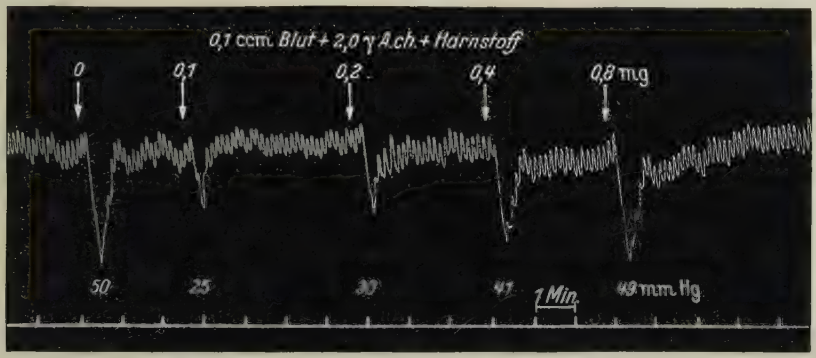


Abb. 4.

und darüber einen fermenthemmenden Einfluß haben. Abb. 3 zeigt besonders den aktivierenden Einfluß des Amylalkohols in niedrigen Konzentrationen.

Äthylalkohol übt in Konzentrationen bis 0,25 % einen aktivierenden Einfluß aus. In Anwesenheit von 0,5 % Alkohol im Blute ist die Fermentreaktion bereits gehemmt.

Es sei schließlich noch die Wirkung des Harnstoffs auf die Aktivität der Cholinesterase des Blutes an Hand der Abb. 4 gezeigt. Harnstoff wirkt in Konzentrationen bis zu 0,8 % aktivierend, wobei der aktivierende Einfluß in steigenden Konzentrationen abnimmt.

Besprechung.

Die mitgeteilten Versuche haben gezeigt, daß die zu den Narkotica zu rechnenden Stoffe Chloralhydrat, Evipan-Natrium, Urethan, Veronal-Natrium, Amyl- und Äthylalkohol und außerdem der Harnstoff den fermentativen Abbau des Azetylcholins durch die Blutesterase nicht unwesentlich beeinflussen. Alle untersuchten Narkotica üben in höheren Konzentrationen einen hemmenden Einfluß auf die Aktivität der Cholinesterase

aus, und zwar nimmt mit Erhöhung der Narkoticakonzentrationen auch deren hemmender Einfluß zu. Während Chloralhydrat und Evipan-Natrium in allen — von uns untersuchten — Konzentrationen auf das Esteraseferment hemmend wirken, zeigten die übrigen untersuchten Narkotica in niedrigen Konzentrationen einen fermentaktivierenden Einfluß, der beim Harnstoff auch noch in höheren Konzentrationen zu beobachten war. Nachdem also für die Narkotica und den Harnstoff ein Einfluß auf die Aktivität der Cholinesterase nachgewiesen werden konnte, erhebt sich die Frage, wie diese teils hemmende, teils aktivierende Wirkung auf das Ferment zu erklären ist. Es besteht durchaus die Möglichkeit — wie wir oben bereits angedeutet haben —, daß Änderungen im physikalisch-chemischen Zustand der Fermentkolloide der Grund sind für die Änderungen, die das Esteraseferment in seiner Wirksamkeit durch Narkotica und Harnstoff erfährt. Kochmann[11] konnte nachweisen, daß Narkotica in sehr niedrigen Konzentrationen das Quellungsvermögen von Organkolloiden erhöhen, in höheren Konzentrationen dagegen auf Organkolloide entquellend wirken. Diese Befunde wurden durch Untersuchungen von Dette[12], Wels[13], H. G. Barbour[14], Sivadjian[15] ergänzt. Für den Harnstoff konnten Heim[10], Beck und Schormüller[16], W. Pauli[17] u. a. den Nachweis erbringen, daß nicht nur das Wasseraufnahme- und Wasserbindungsvermögen, also Quellung und Hydratation von Kolloiden, sondern auch deren Löslichkeit, Stabilitäts- und Dispersitätsgrad durch Harnstoff erhöht wird.

Nach unserer heutigen Auffassung besteht ein Fermentkomplex aus spezifisch gebauten aktiven Gruppen und einem kolloidalen Träger, der wohl in den meisten Fällen ein Eiweißkörper sein dürfte. Die Tatsache, daß die spezifisch gebaute aktive Gruppe eines Ferments ihre Wirkung nur in Anwesenheit eines kolloidalen Fermentträgers zu entfalten vermag, legt die Vermutung nahe, daß die kolloidalen Fermentträger die Aufgabe haben, den auf ihren Oberflächen haftenden spezifischen Gruppen eine möglichst große Verteilung und damit möglichst große Berührungsflächen mit dem Fermentsubstrat zu garantieren. Die so geschaffene größtmöglichste Verteilung der spezifischen Gruppen gewährt damit die beste Möglichkeit für das Zustandekommen adsorptiver oder auch echter chemischer Bindungen des Substrats an die freien Valenzen der aktiven Gruppen des Ferments. Man darf annehmen, daß sowohl der Harnstoff als auch die Narkotica in niedrigsten Konzentrationen als Nichtelektrolyte dadurch einen quellungsfördernden Einfluß auf Kolloide auszuüben vermögen, daß sie eine Einlagerung von Wassermolekülen in den Molekularkomplex des Kolloids begünstigen, ein Vorgang, den W. Pauli[17] als

[11] Biochem. Z. **136**, 49 (1923). — [12] Ebenda **149**, 136 (1924). — [13] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **116**, 67 (1926). — [14] Science (N. V.) **73**, 346 (1931). — [15] Bull. Sci. pharmacol. **40**, 292 (1933). — [16] Kolloid-Z. **80**, 333 (1937). — [17] Ebenda **67**, 288 (1934).

Parahydratation bezeichnet hat. Durch diesen Vorgang muß es zu einer Auflockerung der Micellenstruktur der kolloidalen Fermentträger kommen, die mit einer Zunahme der Oberflächenentwicklung einhergeht, wodurch den auf der vergrößerten Oberfläche haftenden spezifischen aktiven Gruppen eine bessere Verteilung, eine leichtere Bindung an das Substrat und damit eine raschere und intensivere Wirkung zuteil wird. Andererseits führt die durch höhere Narkoticakonzentrationen hervorgerufene Entquellung zu einer Verkleinerung der kolloidalen Oberflächen des Fermentträgers und damit zu einer Abnahme der Wirksamkeit des ganzen Fermentkomplexes. Da mit hochgradiger Entquellung eine Abnahme des Dispersitäts- und Löslichkeitsgrades von Eiweißkörpern einhergeht, so kann es unter dem Einfluß sehr hoher Narkoticakonzentrationen zur Zusammenballung und eventuell zur Denaturierung der Fermenteiweißkörper kommen, ein Vorgang, der zur Lähmung fermentativer Vorgänge führen wird. Diese Vorstellungen, die, wie wir mitgeteilt haben, experimenteller Grundlage nicht entbehren, vermögen unsere oben mitgeteilten Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Narkotica und des Harnstoffs auf die Aktivität der Cholinesterase befriedigend zu erklären. Daß das Chloralhydrat und Evipan-Natrium auch in niedrigen Konzentrationen auf die Cholinesterase hemmend wirken, hat wohl darin seinen Grund, daß die Konzentrationsbereiche des Chloralhydrats und Evipan-Natriums, in denen sie noch quellungsfördernd und damit noch fermentaktivierend wirken würden, wahrscheinlich zu niedrig sind, als daß sie überhaupt noch einen erkennbaren und in unseren Versuchen nachweisbaren Einfluß auf die Fermentaktivität besitzen. Es bleibt noch die Beobachtung zu erklären, daß der aktivierende Einfluß des Harnstoffs auf die Cholinesterase mit steigenden Konzentrationen abnimmt. Doch stimmen diese Beobachtungen mit den Versuchen von Heim[18] überein, der nachgewiesen hat, daß Harnstoff in Konzentrationen von 0,1—0,25% auf Gewebskolloide stärker quellungsfördernd wirkt als in höheren Konzentrationen (0,5—2,0%). Unter dem Einfluß größerer Harnstoffkonzentrationen kann die Wassereinlagerung in die Eiweißmicelle unter Umständen so gesteigert sein, daß der innere strukturelle Aufbau des Fermentkolloids bereits Veränderungen erfährt, die mit einer Abnahme der Wirksamkeit des Ferments einhergehen. Im extremen Falle kann die durch Harnstoff erzwungene Einlagerung von Wassermolekülen in die Eiweißmicelle soweit gehen, daß die Molkohäsion gesprengt wird und der ursprünglich große Molekularkomplex in kleinere zerfällt. Für diese Vorstellung sprechen auch die Untersuchungsergebnisse von Williams und Watson[19] und Burck und Greenberg[20], die zeigen konnten, daß in konzentrierteren Harnstofflösungen das Molekulargewicht verschiedener Eiweißkörper nur

[18] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 212 (1938). — [19] Nature (Brit.) **139**, 506 (1937). — [20] J. biol. Chem. (Am.) **87**, 197 (1930).

die Hälfte bis ein Zehntel des normalen, d. h. des in wässeriger Lösung bestimmten Molekulargewichts beträgt. Es darf mit Sicherheit angenommen werden, daß derartig tiefe Eingriffe in den Aufbau eines kolloidalen Körpers dessen Eigenschaften als Ferment zerstören.

Es wurde bereits einleitend darauf hingewiesen, daß als der chemische Überträgerstoff der Vaguswirkung das Azetylcholin anzusehen ist, das bei einer Vagusreizung an dessen Endigungen im Erfolgsorgan gebildet wird und durch sein Eindringen in die Zelle den nervösen Reiz auf die Zelle überträgt. Das Azetylcholin gehört zu den sogenannten Potentialstoffen, die nach W. Straub [21] „durch den Ausgleich eines bestimmtwertigen Konzentrationspotentials in der Richtung zum Zellinnern hin" als Zellreiz wirksam werden. Nicht allein die Anwesenheit eines Potentialstoffs genügt also, sondern erst das Vorhandensein eines Konzentrationsunterschiedes zwischen der Umgebung der Zelle und dem Zellinnern schafft die Voraussetzung für das Wirksamwerden eines Potentialstoffs. Nach Gremels [22] sind es Änderungen der Wirkungsbedingungen, aus denen heraus Änderungen der Wirksamkeit verstanden werden können. Dabei wird die Wirkungsstärke bestimmt von der Höhe des bestehenden Konzentrationspotentials, während die Dauer der Wirkung abhängig ist von der Geschwindigkeit, mit der sich der Konzentrationsunterschied zwischen der Umgebung der Zelle und dem Zellinnern auszugleichen vermag. Für die Tatsache, daß als der Entstehungsort des Vagusüberträgerstoffes Azetylcholin die unmittelbare Umgebung der Körperzellen in Frage kommt, haben die Untersuchungen von Ph. Stöhr jr. [23] und seinen Mitarbeitern über die Endausbreitung des vegetativen Nervensystems einen neuen Beweis geliefert. Nach Stöhr „umschließt der Endapparat des vegetativen Nervensystems in gleicher Weise glatte, Herz- und Skeletmuskelfasern, Drüsenzellen und viele Zellen des Stützgewebes. Er entwickelt an der äußersten Peripherie eine derartige Feinheit in der Ausbildung seiner Waben, daß wir, von wenigen Ausnahmen abgesehen, eine Beeinflußbarkeit jeder einzelnen Körperzelle durch das vegetative Nervensystem in Rechnung setzen dürfen".

Nach den Untersuchungen von Adrian [24] steht der Vagus unter einem zentralen Dauertonus, der zu einer Dauerbildung von Azetylcholin an den Endigungen des Nerven im Erfolgsorgan führt. Es würde sich aber nach dem Eindringen des Azetylcholins in die Zellen sehr rasch ein Konzentrationsgleichgewicht zwischen dem Bildungsort und dem Zellinnern einstellen müssen, d. h. es würde ein Aufhören der Wirkung zustande kommen, wenn nicht der Dauerbildung von Azetylcholin eine Dauerzerstörung dieses Stoffes im Zellinnern gegenüberstände. Diese Dauerzerstörung des Azetylcholins in der Zelle geschieht durch die Cholin-

[21] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **57**, 423 (1907). — [22] Ergeb. d. Physiol. **42**, 53 (1939). — [23] Klin. Wschr. Nr. 2, S. 41 (1939). — [24] J. Physiol. (Brit.) **74**, 115 (1932).

esterase. Wie wir bereits einleitend darauf hinwiesen, ist dieses Ferment nicht nur in den Körperzellen sondern auch im Blute und der Gewebsflüssigkeit enthalten. Da also auch am Bildungsort des Azetylcholins die Cholinesterase vorhanden ist, kann noch vor dem Wirksamwerden, d. h. vor dem Eindringen des Azetylcholins in das Zellinnere, ein Teil des an den Nervenendigungen gebildeten Überträgerstoffes zerstört werden. Diese Tatsache darf man als eine Schutzvorrichtung ansehen, aus der heraus der Begriff der oberen Grenzwirkungsmengen für Potentialstoffe, wie er von Gremels[22] entwickelt worden ist, verstanden werden kann. Wenn infolge zu hohen zentralen Vagustonus oder infolge plötzlicher hochgradiger Nervenreizung sehr große Mengen des Überträgerstoffes in der Peripherie gebildet werden, so kann durch das am Entstehungsort vorhandene Ferment noch vor dem Eindringen in die Zelle ein Teil des Azetylcholins zerstört werden, und so die Einwirkung eines übermäßig starken zentralen Tonus oder schädlichen Nervenreizes auf die Zelle verhindert werden. Fermente sind als derartige Schutzvorrichtungen deshalb ganz besonders geeignet, weil die Stärke und Geschwindigkeit der Fermentreaktion bekanntlich in hohem Maße abhängig ist von der Konzentration, in der das Fermentsubstrat — in unserem speziellen Falle das Azetylcholin — vorhanden ist.

Wir haben also gesehen, daß bei der Übertragung der Vaguswirkung auf die Zellen des Erfolgsorgans durch das Azetylcholin der intracellulär gebundenen Cholinesterase die Aufgabe zufällt, durch Dauerzerstörung des Azetylcholins in der Zelle die Azetylcholinkonzentration möglichst niedrig zu halten. Da sich auch am Entstehungsort des Azetylcholins Esteraseferment vorfindet, so ist damit zu rechnen, daß stets ein gewisser Prozentsatz des gebildeten Azetylcholins schon vor seinem Wirksamwerden, d. h. vor seinem Eindringen in die Zelle, zerstört wird. Bei konstantem Vagustonus, d. h. bei gleichbleibender Azetylcholinbildung, wird also die Höhe des zwischen dem Bildungsort und dem Zellinnern bestehenden Konzentrationspotentials maßgebend bestimmt von der Geschwindigkeit des fermentativen Abbaues des Azetylcholins außerhalb und innerhalb der Zelle. Denn einerseits eine verminderte Zerstörung von Azetylcholin außerhalb der Zelle als andererseits ein beschleunigter Abbau von Azetylcholin im Zellinnern bewirken eine Erhöhung des Konzentrationsgefälles zwischen beiden Orten. Es besteht nun durchaus die Möglichkeit, daß in der Narkose das zugeführte Narkoticum in der Umgebung der Zelle in einer bedeutend höheren Konzentration vorhanden ist als im Zellinnern, denn man darf annehmen, daß die auf dem Blut- und Lymphwege in die Umgebung der Zelle gelangenden Narkoticamoleküle zu einem wesentlichen Teile vor und an den Zellgrenzflächen adsorptiv festgehalten werden und nur dann bis ins Innere der Zelle gelangen, wenn das Narkoticum in entsprechend hoher Konzentration sich in der Umgebung der Zelle vorfindet. Infolge dieser Verteilung kann die Konzentration

des Narkoticums am Bildungsort des Azetylcholins so hoch sein, daß sie auf die dort vorhandene Esterase bereits einen hemmenden Einfluß ausübt. In der Zelle wird das Narkoticum eine Konzentration, die noch aktivierend auf das Esteraseferment wirkt, wohl kaum überschreiten können. Während sich also am Bildungsort des Azetylcholins infolge verlangsamter Zerstörung die Konzentration dieses Stoffes erhöhen muß, kann innerhalb der Zelle durch beschleunigten Abbau die Azetylcholinkonzentration sehr niedrig eventuell auf dem Nullwert gehalten werden. Daraus ergibt sich ohne weiteres eine Erhöhung des Konzentrationsgefälles zwischen dem Bildungsort des Azetylcholins und dem Zellinnern. Da die Höhe des Azetylcholinkonzentrationspotentials die Wirkungsstärke bestimmt, so kommt es in der Narkose trotz gleichbleibender Azetylcholinbildung zu einer verstärkten Vaguswirkung auf die Zellen des Erfolgsorgans.

Bekanntlich beobachten wir auch in der Narkose eine Reihe von Symptomen, als deren gemeinsame Ursache wir einen erhöhten Vagustonus ansehen müssen. Es sind das Blutdrucksenkung, Bradycardie, verlangsamte Atmung, Lidschluß, enge Pupillen und vor allem eine Einschränkung der gesamten oxydativen Verbrennungsvorgänge in der Zelle. Meist aber geht diesem Stadium der tiefen Narkose, dessen Zustandekommen die Anwesenheit höherer Narkoticakonzentrationen im Blute und im Gewebe voraussetzt, ein Stadium voraus, das durch die Anwesenheit sehr niedriger Narkoticakonzentrationen charakterisiert ist und das mit Symptomen einhergeht, die den obengenannten, während der tiefen Narkose zu beobachtenden, gerade entgegengesetzt sind. In Gegenwart niedriger Narkoticakonzentrationen scheint also der normale Vagustonus herabgesetzt zu sein und ein relatives Überwiegen des Sympathicustonus vorzuliegen. Diese Tatsache läßt sich auf Grund unserer Beobachtungen über den fermentaktivierenden Einfluß niedriger Narkoticakonzentrationen ebenfalls erklären. Die im Anfangsstadium der Narkose im Blut und Gewebe vorhandenen noch relativ kleinen Narkoticummengen werden ausschließlich in der Umgebung der Zelle festgehalten, so daß ein Eindringen in das Zellinnere unterbleibt. Der Einfluß des Narkoticums erstreckt sich also im Anfangsstadium der Narkose ausschließlich auf die extracellulär vorhandene Esterase. Unter dem fermentaktivierenden Einfluß dieser niedrigen Narkoticakonzentrationen wird Azetylcholin bereits an seinem Entstehungsort in verstärktem Maße abgebaut. Bei gleichbleibender Azetylcholinbildung muß infolge der rascheren Zerstörung die Azetylcholinkonzentration in der Umgebung der Zelle absinken, was eine Erniedrigung des Azetylcholinkonzentrationsgefälles und somit eine Abnahme der Azetylcholin- bzw. Vaguswirkung zur Folge hat.

Nicht uninteressant ist die Tatsache, daß der Äthylalkohol in einer Konzentration von 0,25% die Cholinesterase in unseren Versuchen noch aktiviert, während die doppelte Konzentration, also 0,5%, den fermen-

tativen Abbau des Azetylcholins im hemmenden Sinne beeinflußt. Nach den Untersuchungen von Goldhahn[25], Turner[26] und Nicloux[27] bewirkt die Konzentration von 0.25% Alkohol im Blute bei Mensch und Tier die Erscheinungen, die wir gemeinhin als leichten Rausch bezeichnen und die in ihrem ganzen Symptomenbild auf einen erniedrigten Vagustonus hinweisen, während die Konzentration von 0.5% Alkohol im Blute den schweren Rauschzustand, mit comatösen Zuständen einhergehend, hervorruft.

Wir sehen also in Gegenwart niedriger Narkoticakonzentrationen bzw. kleiner Alkoholkonzentrationen im Blute bei Mensch und Tier ein Symptomenbild, das auf einen niedrigen Vagustonus und ein relatives Überwiegen des Sympathicustonus hinweist. Bei Anwesenheit höherer Narkotica bzw. Alkoholkonzentrationen im Blute beobachten wir eine Reihe von Symptomen, die durch einen erhöhten Vagustonus hervorgerufen sein müssen. Das Vorhandensein dieser beiden gegensätzlichen Stadien — sowohl in der Narkose als auch bei Aufnahme von Alkohol — hat nach unserer Meinung einen wesentlichen Grund darin, daß bei Aufnahme niedriger Alkohol- bzw. niedriger Narkoticakonzentrationen die Moleküle nur bis in die Umgebung der Zelle, also nur bis zum Bildungsort des Azetylcholins, vorzudringen vermögen, und dort durch beschleunigten Abbau des Überträgerstoffes Azetylcholin dessen Konzentration in der Umgebung der Zelle herabsetzen und somit dessen Wirksamkeit schwächen. Bei Aufnahme großer Narkoticamengen dagegen erreicht das Narkoticum in der Umgebung der Zelle eine Konzentration, die auf die Cholinesterase bereits einen hemmenden Einfluß ausübt und somit eine Azetylcholinkonzentrationserhöhung bewirkt. Wenn infolge der hohen Außenkonzentration das Narkoticum bis in das Zellinnere gelangt, so wird es in der Zelle eine Konzentration, die auf das Esteraseferment noch aktivierend wirkt, kaum überschreiten. Es kann in diesem Falle infolge des beschleunigten Abbaues die Azetylcholinkonzentration innerhalb der Zelle niedriger als normal gehalten werden. Aus einer Erhöhung der Azetylcholinkonzentration in der Umgebung der Zelle und einer gleichzeitigen Erniedrigung der Azetylcholinkonzentration innerhalb der Zelle folgert selbstverständlich eine bedeutende Zunahme des Azetylcholinkonzentrationsgefälles in der Richtung zum Zellinnern. Eine Erhöhung des Azetylcholinkonzentrationsgefälles bedeutet in Analogie zu dem früher Gesagten eine Wirkungsverstärkung. Auf Grund früherer Untersuchungen von Heim[10] über die Wirkungsweise der Narkotica und der vorstehenden Untersuchungen über die Beeinflussung der Fermentwirkung durch Narkotica ist als das Wesen der pharmakologischen Wirkung dieser Stoffgruppe eine Änderung der Wirkungsbedingungen für den Potentialstoff Azetylcholin anzusehen. Die

[25] Klin. Wschr. 1932, S. 1834. — [26] J. biol. Chem. (Am.) **92**, 86 (1931). — [27] Rech. expérim. sur l'eliminat. Paris 1928.

Narkotica müssen daher vom allgemein pharmakologischen Gesichtspunkte den Zustandsstoffen im Sinne von Gremels[22,28] zugerechnet werden.

Wir konnten in unseren Versuchen zeigen, daß in Anwesenheit von 0,1—0,2% Harnstoff im Blute der fermentative Abbau des Azetylcholins sehr beschleunigt ist. Da wir in der Urämie Harnstoffmengen von 0,1% und darüber in Blut und Körperzellen finden, so muß diesen Harnstoffmengen ein nicht unwesentlicher Einfluß auf den fermentativen Abbau des Nervenüberträgerstoffs Azetylcholin und somit auf die Vaguswirkung zukommen. Vielleicht sind deshalb eine Reihe der die Urämie begleitenden Symptome nicht zuletzt auf ein Versagen des vagischen Systems zurückzuführen.

Zusammenfassung.

1. Es wurde der Einfluß mehrerer Narkotica und des Harnstoffs auf die Aktivität der Cholinesterase des Blutes untersucht.

2. Harnstoff wirkt in allen untersuchten Konzentrationen fermentaktivierend. Die Narkotica — mit Ausnahme des Chloralhydrats und Evipan-Natriums — wirken in niedrigen Konzentrationen fermentaktivierend, in höheren Konzentrationen üben sie einen hemmenden Einfluß auf die Aktivität der Cholinesterase aus.

3. Der Einfluß der genannten Pharmaca auf die Cholinesterase wird mit ihren physikalisch-chemischen Wirkungen auf Kolloide in ursächlichen Zusammenhang gebracht.

4. Es wird der Einfluß, den die genannten Stoffe auf die Aktivität der Cholinesterase ausüben, mit den bekannten pharmakologischen Wirkungen dieser Stoffe in Verbindung gebracht.

[28] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 625 (1937).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Versuchsanordnung zu Untersuchungen an der Bronchialmuskulatur.

Von

Heribert Konzett und **Richard Rössler.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. März 1940.)

Anläßlich von Versuchen zur Pharmakologie der Bronchialmuskulatur haben wir in Weiterentwicklung bekannter Verfahren eine Registrieranordnung ausgearbeitet, die sich gut bewährt hat. Da sie einige Vorteile bietet und mit einfachen Mitteln herzustellen ist, scheint uns eine Mitteilung gerechtfertigt.

Zur Registrierung physiologischer oder pharmakologischer Wirkungen auf die Bronchialmuskulatur unter Erhaltung der natürlichen Lungendurchblutung finden hauptsächlich zwei Methoden Verwendung[1]: Das eine Verfahren beruht auf der Messung des Druckes in der Trachea bei gleichgehaltenem Volumen der künstlichen Überdruckbeatmung. Kapazitätsänderungen in den Luftwegen durch Kontraktion oder Erschlaffung der Bronchialmuskulatur kommen bei dieser Art der Registrierung in einer Steigerung bzw. Senkung des intratracheal gemessenen maximalen Inspirationsdruckes (richtiger wohl: Aufblasungsdruckes) zur Geltung.

Bei dem anderen Verfahren wird direkt oder indirekt das Luftvolumen gemessen, das die Lunge aufnimmt, wenn man den maximalen Aufblasungsdruck konstant hält und durch Überdruckbeatmung ein gleichbleibendes Volumen anbietet. Kapazitätsänderungen in den Luftwegen äußern sich hier in einer Zunahme oder Abnahme der von der Lunge unter dem gegebenen konstanten Aufblasungsdruck aufgenommenen Luftmenge.

Die Methode der Druckmessung hat, wie schon Kiese[1] hervorhebt, vor allem den Nachteil, daß die Auswirkung von Änderungen im Kontraktionszustand der Bronchialmuskulatur durch die gleichzeitigen Druckänderungen beeinträchtigt wird. Die Bronchokonstriktion führt zu einer Drucksteigerung, die ihrerseits wieder der Zusammenziehung der Bronchialmuskulatur entgegen wirken muß; umgekehrt wird eine Erschlaffung der glatten Muskulatur in den Bronchien durch die damit verbundene Druckentlastung zu einem nur unvollkommenen Erweiterungseffekt führen.

Wir gingen bei der Ausarbeitung unserer Versuchsanordnung von dem zweifellos geeigneteren Verfahren der Volummessung aus, das Änderungen im Kontraktionszustand der Bronchialmuskulatur unverfälscht wiedergibt.

[1] Literatur s. bei Einthoven, W.: Pflügers Arch. **51**, 367 (1892); Tiefensee, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **139**, 129 (1929); Kiese, M.: Ebenda **178**, 342 (1935).

Bisher wurden zu solchen Volummessungen meist Spirometer benützt (Tiefensee[1], Kiese[1], Rietschel[2]), die das von der Lunge nicht aufgenommene Luftvolumen registrierten. Aus der Differenz zwischen dem so gemessenen Luftvolumen und dem bekannten Beatmungsvolumen läßt sich das Atemvolumen der Lunge berechnen. Das Spirometer ist unmittelbar in den Kreis Atmungspumpe — Lunge eingeschaltet und dient gleichzeitig zur Einstellung des maximalen Aufblasungsdruckes, der durch Belasten der Spirometerglocke (Sperrflüssigkeit: Quecksilber) auf die entsprechende Höhe gebracht wird. Es lassen sich daher in dieser Anordnung alle anderen nicht belastbaren Volumschreiber, z. B. Pistonrekorder, nicht verwenden.

Da uns kein Spirometer zur Verfügung stand, benutzten wir zur Registrierung die in Abb. 1 schematisch wiedergegebene Anordnung.

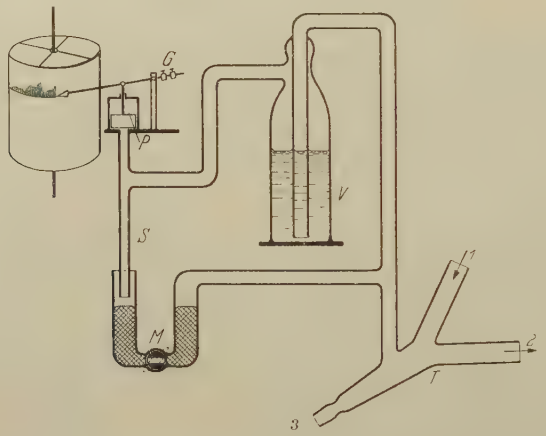


Abb. 1.

Die beiden Schenkel 1 und 2 der Trachealkanüle T sind mit einer Starlingschen Atmungspumpe verbunden, die bekanntlich so gesteuert ist, daß bei der Lufteinblasung von 1 her der Abfluß nach 2 gesperrt bleibt. Zwischen den Pumpenanschlüssen der Kanüle und ihrem in die Trachea eingebundenen Ansatz 3 zweigt ein Nebenweg ab, der einerseits zu dem Quecksilbermanometer M, andererseits zu der als Wasser-Überdruckventil geschalteten Waschflasche V führt. Wird von der Starling-Pumpe durch den Ansatz 1 Luft in die Lunge eingeblasen, so füllt sich die Lunge so lange, bis der Druck in dem System den durch die Höhe der Wassersäule in V eingestellten Wert (meist 80 -120 mm) erreicht hat. Die noch weiter zuströmende Luft fließt dann durch das Überdruckventil in den Pistonrekorder P, der den bei jeder Aufblasung verbleibenden Luftüberschuß auf einem Kymographion registriert.

Um nach jeder Füllung die selbsttätige Entleerung des Pistonrekorders zu ermöglichen, haben wir das Manometer M als Steuerungsventil geschaltet:

[2] Rietschel, H.: Klin. Wschr. **14**, 1649 (1935).

Die mit der Aufblasung der Lunge verbundene Drucksteigerung (von Null bis zu dem in V eingestellten Maximaldruck) wirkt auf das Manometer, dessen Quecksilbersäule die etwa 5 mm weite Öffnung des vom Pistonrekorder kommenden Glasrohres S nach Beginn des Druckanstieges abschließt. Das Rohr S, das ist die Verbindung des Pistonrekorders mit der Außenluft, bleibt dann während der ganzen Dauer des Aufblasungsvorganges geschlossen, so daß die in V überfließende Luftmenge quantitativ der Registrierung zugeführt wird. Nach dem Ende der Aufblasung gibt das Atmungsventil der Starling-Pumpe den Weg nach außen frei, die Lunge entleert sich durch ihre eigene Elastizität, der Druck in der Trachea sinkt, das Manometer M kehrt zur Ausgangslage zurück und öffnet damit das Rohr S. Um den jetzt mit der Außenluft verbundenen Pistonrekorder

Abb. 2. Katze, 2,1 kg. Narkose: Urethan 0,8 g/kg + Chloralose 0,06 g/kg, Thorax geöffnet, künstliche Beatmung mit einer Starling-Pumpe, maximaler Aufblasungsdruck 90 mm H_2O, Beatmungsfrequenz 28/Minute. Obere Kurve: Das von den Lungen nicht aufgenommene Atemvolumen mit einem Pistonrekorder verzeichnet. Bei 1 und 2 elektrische Reizung des rechten Lungenvagus. Infolge Bronchokonstriktion gelangt mehr Luft in den Pistonrekorder. Zeitmarken: 10 Sekunden.

während der Ausatmungspause wieder in seine Ausgangslage zurückzuführen, sind die Ausgleichsgewichtchen G so eingestellt, daß der Kolben mit dem Schreibhebel ein geringes Übergewicht hat und dadurch bis zum Anschlag am Boden des Zylinders absinkt.

Für den störungsfreien Gang der Anordnung ist folgendes wichtig: Der Pistonrekorder muß sorgfältig gereinigt sein, um ein möglichst reibungsloses Gleiten besonders in der Abwärtsbewegung zu sichern. Das Manometer soll mit Hilfe des Hahnes H annähernd aperiodisch gedämpft sein, da die Quecksilbersäule sonst bei der plötzlichen Druckentlastung im Beginn der Ausatmung hin und her pendelt und die Öffnung von S mehrmals wieder verschließt. Das Rohr S muß kurz und möglichst weit sein (etwa 5 mm Innendurchmesser), um den Widerstand für die Entleerung des Pistonrekorders tunlichst zu verringern. Aus diesem Grunde ist auch der Innendurchmesser des Manometerrohres, durch das die Luft von S her schließlich abströmen muß, mit mindestens 10 mm zu bemessen.

Bei Berechnung des Atemvolumens aus den Kurven wäre allenfalls zu berücksichtigen, daß in dem Überlaufventil V durch den steigenden Aufblasungsdruck zunächst das Wasser aus dem eintauchenden Rohr verdrängt wird. Dieses Wasservolumen (etwa 4—6 ccm) würde vollständig mitregistriert, wenn der Nebenweg

des Pistonrekorders durch S schon im Beginn der Aufblasung geschlossen wäre. Stellt man aber das Rohrende von S so hoch über der Quecksilberoberfläche ein, daß es erst kurz vor Erreichung des maximalen Aufblasungsdruckes verschlossen wird, dann kann das jetzt noch mitregistrierte Wasservolumen vernachlässigt werden.

Als Beispiel der Registrierung geben wir in Abb. 2 den Erfolg von zwei gleichen elektrischen Reizungen eines Lungenvagus an der Katze wieder.

Die Vorteile dieser Anordnung gegenüber der Registrierung mit einem Spirometer sind zunächst dadurch gegeben, daß die Einstellung des maximalen Aufblasungsdruckes mit dem Wasserventil V in einfachster Weise möglich ist. Die Zwischenschaltung des Wasserventiles bietet aber vor allem den Vorteil, daß sich jedes volumregistrierende Instrument verwenden läßt. Da die meisten Laboratorien solche Instrumente in verschiedenen Größen besitzen, ist auch eine Anpassung der Anordnung an die Größe des Versuchstieres möglich.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Zur Biologie des 2, 4-Diaminoazobenzols.

III. Mitteilung.

Chemisches über Azorhodan „R".

Von

H. Riedel.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. März 1940.)

In einer früheren Arbeit (1) wurde die Beobachtung gemacht, daß nach Zusatz von Alkalien zu wässerigen Azorhodanlösungen eine gelbgefärbte Substanz ausfiel, deren Schmelzpunkt nach zweimaligem Umkristallisieren aus heißem Wasser bei 159—160° unkorr. lag. Es konnte sich dabei nicht um die Base 2, 4-Diaminoazobenzol handeln, da deren Schmelzpunkt mit 117° (2) angegeben wird. Weiterhin hatte sich bei der Untersuchung verschiedener als 2, 4-Diaminoazobenzol im Handel befindlicher Azobasen herausgestellt, daß die Schmelzpunkte je nach der Herkunft verschieden weit vom richtigen Wert abwichen und sich in einem Bereich zwischen ungefähr 80—150° hielten. Es wurde deshalb unternommen, 2, 4-Diaminoazobenzol aus analysenreinen Ausgangsmaterialien selbst zu synthetisieren und die Rhodanverbindung daraus herzustellen.

129,5 g Anilinchlorhydrat wurden in einer ausreichenden Menge Wasser gelöst, von dunklen unlöslichen Partikelchen durch Filtration befreit und dann mit 69,0 g Natriumnitrit in Gegenwart von 2 Mol Salzsäure bei einer Temperatur von 0° diazotiert. Das Diazotierungsgemisch wurde 30 Minuten lang sich selbst überlassen, mit 181,0 g m-Phenylendiaminhydrochlorid gekuppelt, anschließend mit einem geringen Überschuß Natronlauge versetzt und die ausgeflockte braungelbe Substanz abgenutscht. Die auf diese Weise erhaltene unreine Farbbase wurde aus siedendem Wasser zweimal umkristallisiert. Der Schmelzpunkt lag bei 117° unkorr.

Ergebnis der Mikroanalyse:

Berechnet: 67,9 % C, 5,7 % H, 26,4 % N
Gefunden: 68,1 % C, 5,8 % H, 26,3 % N

Es mußte sich demnach bei dem synthetischen Produkt um 2, 4-Diaminoazobenzol handeln.

Zur Herstellung der Rhodanverbindung wurde eine konzentrierte alkoholische 2, 4-Diaminoazobenzollösung zu einem Überschuß 5%iger Rhodanwasserstoffsäure gegeben, wobei sofort die schwerlösliche Rhodanverbindung ausfiel, die im folgenden als „Azorhodan R" bezeichnet wird. Das Azorhodan R wurde auf der Nutsche durch Übergießen mit dest. Wasser von überschüssiger Rhodanwasserstoffsäure befreit und aus heißem Wasser und anschließend aus Äthylalkohol umkristallisiert.

Bei der Bestimmung des Schmelzpunktes war bis 176° nichts zu beobachten, von da ab trat aber langsame Dunkelfärbung ein. Bei 180° sackte die Masse etwas zusammen und blähte sich dann sofort unter starker Schwarzfärbung auf.

Ergebnis der Mikroanalyse:

Berechnet: 57,6% C, 4,8% H, 25,8% N, 11,8% S
Gefunden: 57,6% C, 4,9% H, 25,0% N, 11,8% S

Aus diesem Befund geht hervor, daß in dem synthetisierten Azorhodan R das Monorhodanid des 2, 4-Diaminoazobenzols vorliegt.

Abb. 1.

Eigenschaften: Azorhodan R kristallisiert aus Alkohol in vierkantigen rechtwinkligen granatfarbenen Säulen. Abb. 1. In Wasser betrug die Löslichkeit bei 25° ungefähr 1 : 1500. In Methylalkohol, Äthylalkohol und Aceton war es sehr gut löslich, in Chloroform kaum; in Petroläther und Benzol war es unlöslich, in Olivenöl und Glycerin löste es sich nach Erwärmen gut. Wurde das Azorhodan R in Leitungswasser gegeben, so entstand immer nur eine gelbe Lösung, während in dest. Wasser gelöstes Azorhodan R orangerot aussah. Die Lichtabsorptionskurve bot gegenüber der des früher beschriebenen Azorhodans („Azorhodan Alt") nichts Besonderes. Abb. 2.

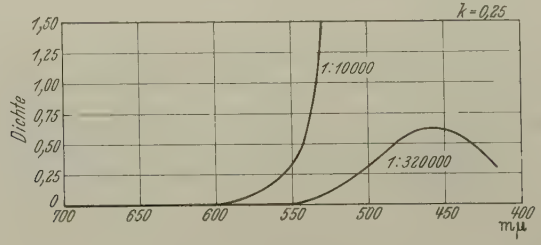


Abb. 2.

In einer Verdünnung 1 : 10000 war von etwa 535 mμ nach Violett hin alles ausgelöscht. Bei 1 : 320000 war in der Gegend von 460 mμ ein Absorp-

tionsmaximum zu beobachten. Bei weiterer Verdünnung nahmen die Azorhodan R-Lösungen einen deutlich kanariengelben Farbton an. Eine Verdünnung von 1 : 2560000 war eben gerade noch als gefärbt zu erkennen. Nach Zusatz von Mineralsäuren zu einer Lösung 1 : 80000 trat Farbvertiefung ein. Wurde eine konzentrierte wässerige Azorhodan R-Lösung mit Natronlauge versetzt, fiel augenblicklich ein gelber Stoff aus, der nach Reinigung und Umkristallisieren aus siedendem Wasser einen Schmelzpunkt von 117° hatte und sich somit als 2, 4-Diaminoazobenzol erwies.

Durch Zinkstaub wurden Azorhodan R-Lösungen allmählich entfärbt. Ein paar Tropfen Perhydrollösung riefen in 20 ccm Farbstofflösung keine sichtbare Veränderung hervor. Erst nach Erwärmen vertiefte sich die Färbung etwas nach Rot hin. Einstündiges Kochen am Rückflußkühler hatte keinen sichtbaren Einfluß auf konzentrierte wässerige Lösungen. Das Verhalten gegen Pikrinsäure ist in der folgenden Tabelle dargestellt:

5 ccm Farbstofflösung + 5 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung riefen bei einer Farbstoffverdünnung von

1 : 10000 nach 30′ dicke Fällung,
1 : 20000 nach 30′ deutliche Fällung,
1 : 40000 nach 30′ kaum noch Fällung,
1 : 80000 nach 30′ nichts mehr

hervor. Die entstandene Fällung sah schmutzig-gelblich aus. Wurde der gleiche Versuch mit gesättigter wässeriger Pikrolonsäurelösung angesetzt, entstand bei einer Verdünnung 1 : 10000 sofort eine gelbliche Trübung, die sich nach wenigen Sekunden zu karminroten Flocken zusammenballte. In einer Verdünnung 1 : 80000 waren gerade noch feinste karminrote Flöckchen zu erkennen.

Aus diesen Befunden geht hervor, daß Azorhodan R, das nun tatsächlich das Monorhodanid des 2, 4-Diaminoazobenzols darstellt, in seinem chemischen Verhalten dem alten Azorhodan sehr ähnlich ist. In der Kristallstruktur weicht die neue Substanz insofern vom alten Azorhodan ab, als sie in rechtwinkligen Säulen kristallisiert, während „Azorhodan Alt“ aus länglichen, an einem Ende abgerundeten Nädelchen besteht. Die Wasserlöslichkeit (1 : 1500) ist größer als die des alten Azorhodans, von dem ein Teil erst in mindestens 5000 Teilen Wasser in Lösung geht. Die Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln weicht von der des alten Azorhodans nicht ab.

Es bleibt die Frage offen, um welche Verbindung es sich bei dem alten Azorhodan handelt. Bekannt sind bisher die Tatsachen, daß es neben der Azogruppe Rhodanwasserstoffsäure enthält und nach Alkalizusatz einen basischen Körper abspaltet, der einen höheren Schmelzpunkt als das 2, 4-Diaminoazobenzol hat und mit Säuren wieder intensiv gefärbte Salze bildet. Es ist anzunehmen, daß die Konstitution dieser unbekannten Base von der des 2, 4-Diaminoazobenzols nicht sehr ver-

schieden sein wird. In einer späteren Arbeit wird untersucht werden, ob vielleicht beim Diazotieren ein Homologes des Anilins verwendet oder bei der Kuppelung ein Methylderivat des m-Phenylendiamins zugesetzt wurde.

Zusammenfassung.

2, 4-Diaminoazobenzol und seine Rhodanwasserstoffverbindung wurden synthetisch dargestellt und einige Eigenschaften des entstandenen Azorhodan R beschrieben.

Literatur.

1) Riedel, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 190 (1940). — 2) Beilstein, Bd. XVI, S. 383.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Untersuchungen am Blutegel über den Angriffspunkt des Santonins und anderer muskelerregender Stoffe.

Von

Dr. **Franz Th. v. Brücke** und Dr. **Hans Sarkander.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. März 1940.)

Die alte Ansicht Küchenmeisters[1], wonach Santonin Ascariden abtötet, ist nach einer Äußerung W. v. Schröders[2] „ausschließlich dem Irrtum eines Apothekergehilfen zu verdanken", der die Versuchsansätze mit den Würmern zu stark erhitzte. Wenn auch dieses Urteil vielleicht nicht ganz zu recht besteht, weil Santonin im alkalischen Darmsaft besonders günstige Lösungsbedingungen findet, und darin für Regenwürmer tatsächlich sehr toxisch ist[3], so neigen doch die meisten Untersucher dazu, mit v. Schröder[4] anzunehmen, daß Santonin „den Tieren ihren Aufenthalt im Dünndarm verleidet und sie veranlaßt, in den Dickdarm hinabzuwandern, wo sie dann durch ein Abführmittel entfernt werden." Um so mehr, als P. Trendelenburg[5] die schon vor ihm bekannte [6, 7] erregende Wirkung des Santonins auf Spulwürmer, Regenwürmer und auch auf die von Henneberg[8] verwendeten Blutegel graphisch registrieren konnte. Aber nicht nur Santonin und solche Santoninderivate, die den unversehrten Laktonring dieser Substanz enthalten, sondern auch Cumarin[9] und Butyrolactone[10] haben zumindest anfänglich erregende Wirkungen und das Gleiche gilt auch von Oleum Chenopodii.

Vor 40 Jahren hat nun W. Straub[11] nachgewiesen, daß völlig nervenlose Regenwurmsegmente noch rhythmische Bewegungen ausführen, daß also bei diesen Tieren eine myogene Erregungsbildung und -leitung besteht, die durch Dehnungsreize verstärkt wird. Dies ist bei Blutegeln, deren ganglienfreie Rückenmuskulatur seit Führer[12] zum Nachweis vor allem des Nikotins und des Azetylcholins verwendet wird, nicht der Fall. Darum sieht man auch an derartigen Präparaten nur ganz aus-

---

[1] Küchenmeister: Arch. physiol. Heilk. **10**, 630 (1850). — [2] Schröder, W.v.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **19**, 290 (1885). — [3] Sollmann, T.: A Manual of Pharmacology, Philadelphia u. London, W. B. Saunders u. Co., 1932. — [4] Schröder, v.: l. c., S. 304. — [5] Trendelenburg, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **79**, 190 (1915). — [6] Coppola, Fr.: Arch. Sci. med. **11**, 255 (1887). — [7] Wedekind, E.: Arch. Pharmaz. **244**, 623 (1906) (nach Versuchen von W. Straub). — [8] Henneberg, Dissertation zit. nach P. Trendelenburg. — [9] Trendelenburg, P.: l. c. — [10] Auell, E.: Dissertation Kiel (1930). — [11] Straub, W.: Pflügers Arch. **79**, 379 (1900). — [12] Führer, H.: l. c.

nahmsweise und für kurze Zeit rhythmische Spontanbewegungen und auch die genannten Muskelgifte erzeugen stets nur glatte Kontraktionen und fast nie rhythmische Bewegungen.

Da nun P. Trendelenburg die von ihm registrierten, frequenten und rhythmischen Kontraktionen nach Santonin und Oleum Chenopodii usw. als rein muskulär erkannt hat, andererseits aber beim Blutegel der Gegensatz zwischen der spontan beweglichen innervierten Muskulatur und der fast immer bewegungslosen denervierten Muskulatur viel deutlicher zutage tritt, als beim Regenwurm und daher auch eine Analyse besser durchgeführt werden kann, schien es uns nicht überflüssig Santonin neuerlich an diesen Tieren zu untersuchen. Gleichzeitig haben wir auch nach anderen muskelerregenden Stoffen gesucht, um die verschiedenen Bewegungsmöglichkeiten der Blutegelmuskulatur kennenzulernen.

Methodisches.

Zu unseren, im folgenden beschriebenen Versuchen, haben wir ausschließlich große, frisch aus der Apotheke bezogene ungarische Blutegel verwendet. Die Tiere wurden entweder unverletzt auf einem Korkbrett fixiert und ihnen die gelösten Substanzen in Mengen von 0.5 ccm mit einer stumpfen Kanüle und einer Tuberkulinspritze durch den Schlund in den Darm injiziert, worauf sie zur Beobachtung in ein Becherglas mit Brunnenwasser gebracht wurden, oder es wurden aus ihnen verschiedene Muskelpräparate hergestellt.

Von diesen ist das von Führer[13] angegebene, reine Muskelpräparat, wie es zur Auswertung von Nikotin und Azetylcholin verwendet wird, allgemein bekannt. Es sei aber nochmals betont, daß nur solche Präparate als reine Muskelpräparate angesehen werden können, die keine Spontanbewegungen zeigen, und daß nahezu alle solchen Bewegungen auf ungenügendes Abpräparieren des Nervensystems zu beziehen sind. Diese Präparate sollen stundenlang bis zur völligen Erschlaffung aushängen und müssen zur Azetylcholinbestimmung vor jeder Probe auf etwa 5 Minuten in 1 : 500000 Physostigmin sensibilisiert werden.

Ganz anders verhält sich das in Abb. 1 skizzierte „Nerv-Muskelpräparat" vom Blutegel, welches wir häufig verwendeten. Es ist zur Prüfung von Wurmmitteln sehr geeignet und wird so hergestellt, daß der Wurm in normaler Lage fixiert und dann beiderseits entlang der gelben Seitenlinie aufgeschnitten wird. Nach Abwaschen des anhaftenden Blutes mit Froschringer, wird der dunkel pigmentierte Bauchsinus etwas kaudal von der Ausmündung des Ovarialschlauches aufgesucht. Er enthält den beim Blutegel, im Gegensatz zu den Regenwürmern beinahe verschmolzenen rechten und linken Nervenstrang. Durch den Bauchsinus schimmern auch die segmental angeordneten Bauchganglien gelblich durch. Von

[13] Führer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 81 (1917).

ihnen gehen strahlenförmig die Muskelnerven ab. Für unsere Zwecke wurden Bauchmuskelstücke mit etwa 6—8 Ganglien verwendet. Diese Präparate zeigen ebenso lebhafte Spontanbewegungen, wie unverletzte Wurmstücke. Schneidet man den Nervenstrang zwischen je zwei Bauchganglien durch, so daß die Ganglien unabhängig voneinander tätig sind, dann ist die Bewegung noch ebenso lebhaft wie vorher, nur pflegen die Ausschläge geringer zu sein. Diese Bewegungen können bei längerem Aufenthalt in Ringer wohl abnehmen, doch fehlen sie niemals völlig, selbst wenn durch Stunden kein Sauerstoff zugeführt wird. Entfernt man jedoch von einem solchen Präparat die Bauchganglienkette, dann verhält es sich nicht anders, als ein reines Präparat der Rückenseite: d. h. es bewegt sich nicht mehr spontan.

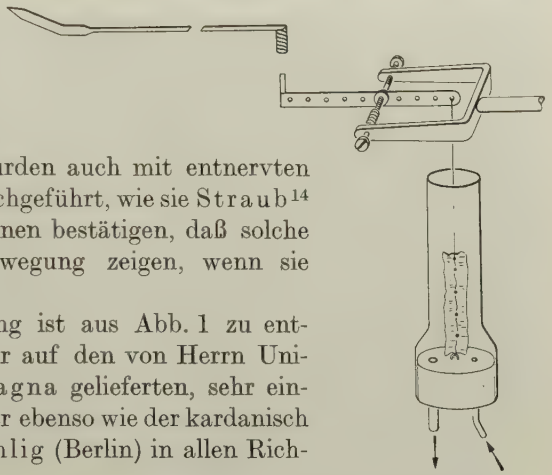


Abb. 1. Versuchsanordnung zur Registrierung eines innervierten Blutegelmuskelpräparats. Dem 5 ccm fassenden Gefäß wird durch das enge Rohr O_2 zugeführt, das dickere dient zum Ablassen der Flüssigkeit. Die Schreibspitze des Hebels ist auf einem Zapfen um eine senkrechte, zweite Achse schwenkbar.

Einzelne Versuche wurden auch mit entnervten Regenwurmsegmenten durchgeführt, wie sie Straub[14] beschrieben hat. Wir können bestätigen, daß solche Stücke lebhafte Eigenbewegung zeigen, wenn sie belastet werden.

Die Versuchsanordnung ist aus Abb. 1 zu entnehmen. Wir möchten nur auf den von Herrn Universitätsmechaniker Castagna gelieferten, sehr einfachen Hebel hinweisen, der ebenso wie der kardanisch aufgehängte Hebel von Uhlig (Berlin) in allen Richtungen des Raumes beweglich ist und daher, wenn er leicht um seine Längsachse gekippt wird, dem Papier stets gleichmäßig anliegt. Er hat den Vorzug größter Einfachheit.

Zur Registrierung verwendeten wir ein Kymographion mit Ölbremsung.

Ergebnisse.

A. Santonin.

Trotz der kurzen Angabe Trendelenburgs, das Santonin habe beim Blutegel die gleiche „muskuläre" Erregungswirkung wie beim Regenwurm, fanden wir zunächst, daß Santonin auf das reine Rückenmuskelpräparat selbst in konzentrierter Lösung (1 : 5000) keinerlei Wirkung ausübt. Verwendeten wir dagegen das innervierte Bauchmuskelpräparat,

[14] Straub, W.: l. c., Pflügers Arch. **79**, 379 (1900).

dann war, wie aus Abb. 2 hervorgeht, die erregende Wirkung weit geringerer Santoninkonzentrationen stets ganz eindeutig: Nachdem sich im vorliegenden Falle die spontanen Bewegungen etwa 10 Minuten nach dem Aufhängen des Präparats in Froschringer, bei mehrmaligem Flüssigkeitswechsel beruhigt hatten und nur der Reiz der Füllung des Gefäßes jedesmal eine geringe Kontraktion auslöste, wurde Santonin 1 : 10000 zugesetzt und es trat nun unter Tonuszunahme eine starke rhythmische Muskeltätigkeit auf. Der Effekt gleicht durchaus dem von Trendelenburg am nervenfreien Regenwurmpräparat Beschriebenen. Das Präparat wurde nun losgebunden und zeigte noch auf dem Korkbrett in Luft liegend

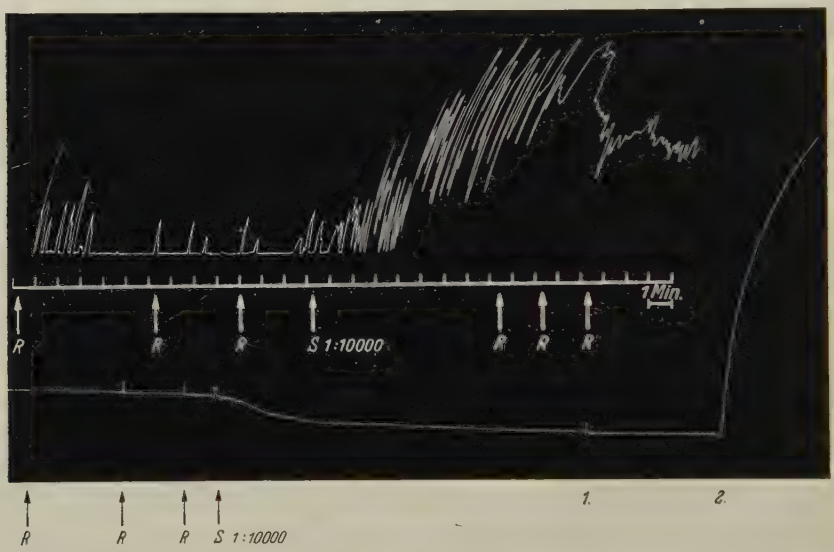


Abb. 2. Obere Kurve: Die Wirkung von Santonin auf ein innerviertes Muskelstück aus der Ventralseite des Blutegels. *R* Froschringer, *S* Santonin. Untere Kurve: Das gleiche Muskelstück nach Entfernen des Nervensystems. Bei 1: Physostigmin 1 : 250000, bei 2: Azetylcholin 1 : 100 Millionen.

heftige krümmende Bewegungen. Mit Hilfe einer Lupenbrille wurde unter sorgfältiger Schonung der Muskulatur das Nervensystem abgetrennt, worauf augenblicklich Unbeweglichkeit eintrat. Wieder in Ringer gebracht blieb der Muskel in völliger Ruhe (die kleinen Zacken beim jeweiligen Flüssigkeitswechsel sind keine Kontraktionen, sondern passive Effekte, die durch Anlegen des erschlafften Wurmes an die Seitenwand des entleerten Gefäßes zustande kommen). Santonin in der gleichen Konzentration wie vor der Entnervung war völlig wirkungslos, der Wurm erschlaffte sogar in dieser Lösung noch weiter. Dabei blieb die Muskulatur völlig normal erregbar, wie der letzte Teil der Kurve in Abb. 2 zeigt. Bei 1 wurde Physostigmin 1 : 250000 zur Sensibilisierung des Präparats eingefüllt und 5 Minuten später Azetylcholin 1 : 100 Millionen bei 2 als Prüf-

lösung. In anderen Versuchen sahen wir, daß bei schonender Präparation des Nervensystems die spontane Bewegung noch stärker sein kann als dies in Abb. 2 gezeigt wird; auch in solchen Fällen wurden diese Bewegungen durch verdünnte Santoninlösungen (Grenzkonzentration etwa 1 : 200000) kräftig angeregt, wobei es manchmal zu Tonuserhöhung kam, manchmal auch nicht. Entnervte Muskelpräparate sind dagegen selbst gegen konzentrierte Santoninlösungen unempfindlich und bleiben es auch bei Belastung des Hebels bis zu 20 g. Physostigmin ist ohne Wirkung auf die Santoninerregung innervierter Präparate.

Die hier beschriebenen Versuche lassen wohl nur den Schluß zu, daß am Blutegel Santonin ausschließlich auf das Nervensystem und gar nicht auf die Muskulatur wirkt. Dies ist um so auffälliger, als wir uns selbst davon überzeugt haben, daß beim Regenwurmpräparat, auch nach Entfernung des (allerdings komplizierteren) Nervensystems, Santonin kräftige, rhythmische Kontraktionen auftreten läßt. Wir können also die Trendelenburgschen Versuche durchaus bestätigen. Eine Möglichkeit, unsere Befunde mit denen P. Trendelenburgs in Einklang zu bringen, schien uns in der Annahme zu liegen, das Santonin wirke zwar auf die Muskulatur, könne aber nur solche Bewegungen verstärken, die schon vorher entweder auf dem Wege über das Nervensystem oder durch Muskelautomatie im Sinne von W. Straub angeregt worden wären.

Um diese Annahme experimentell zu prüfen, haben wir zunächst nach Stoffen gesucht, die etwa auch beim Blutegel eine solche rhythmische Tätigkeit (Automatie) des nervenlosen Muskelpräparats anregen könnten.

B. Aconitin.

Unsere Wahl fiel dabei auf das Alkaloid Aconitin, weil dieser Stoff am Herzmuskel anregend auf die „tertiären", muskelautomatischen Erregungszentren einwirkt und dadurch gehäufte Extrasystolen hervorruft.

Tatsächlich ist Aconitin ein für die Wurmmuskulatur heftig erregender Stoff, der völlig unabhängig vom Nervensystem häufige rhythmische Kontraktionen hervorruft. Abb. 3 zeigt an einem Rückenmuskelpräparat des Blutegels, welches wie immer auf Santonin nicht reagiert, die stark tonisierende, vor allem aber auch rhythmisch kontrahierende und erschlaffende Wirkung von Aconitin in einer Konzentration von 1 : 100000. Schwächere Konzentrationen wirken meist nicht mehr deutlich, manchmal ist auch 1 : 100000 noch unwirksam und erst 1 : 50000 erregend. Die hierbei auftretenden Bewegungsbilder können sehr verschieden aussehen. Manchmal überwiegt die Anregung der rhythmischen Bewegungen, so daß wenige, aber große Ausschläge pro Minute erfolgen, manchmal sind dagegen die Ausschläge klein und frequent, dafür nimmt die Gesamtverkürzung stärker zu.

Daß die Aconitinwirkung rein muskulär ist, konnten wir auch dadurch zeigen, daß wir nach dem Vorgehen von Straub bei Blutegeln von der Ventralseite aus mehrere Bauchganglien und die dazwischen liegenden Nervenstränge exstirpierten und dann die Tiere überleben ließen, bis die Nervenendigungen degeneriert sein mußten. Es wurde festgestellt, daß Muskelpräparate aus dem Rückenteil des entnervten Abschnittes noch nach 9 Tagen mit rhythmischen Kontraktionen auf Aconitin reagierten.

Aconitin ist somit das einzige bisher bekannte Alkaloid*, das in hoher Verdünnung am Rückenmuskel von Blutegeln rhythmische Kontraktion bewirkt. Da am hiesigen Institut vor einiger Zeit Hueber und Lehr[15] einen Antagonismus zwischen der herzerregenden Aconitinwirkung und Magnesiumsalzen nachweisen konnten, haben wir auch am Blutegel Versuche mit Magnesiumchloridlösungen durchgeführt. Wie am Froschherzen, so wird auch hier die Aconitinwirkung durch 1—2%ige $MgCl_2$-Lösungen beseitigt, so daß die Muskelpräparate wieder vollkommen erschlaffen. Solche Präparate sind aber nicht gelähmt, da Nikotin ($1:10^6$) zwar abgeschwächt, aber noch deutlich tonisch kontrahierend wirkt. An innervierten Bauchmuskelpräparaten ist die Aconitinwirkung ebenfalls vorhanden, jedoch kommt sie wegen der Spontanbewegungen solcher Stücke weniger deutlich zur Geltung.

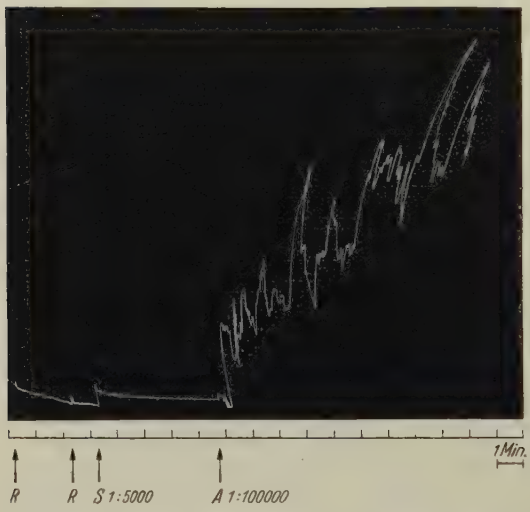


Abb. 3. Die Wirkung von Aconitin und Santonin auf ein nicht innerviertes Muskelpräparat aus dem Rücken des Blutegels. *S* Santonin, *A* Aconitin.

Die erregende Wirkung des Aconitins auf die Wurmmuskulatur macht sich auch am ganzen Tier geltend: Injiziert man in der oben beschriebenen Weise einem Egel 0,5 ccm einer 1 : 10000-Lösung von Aconitin in den Darm und läßt das Tier dann frei schwimmen, so sieht man nach kurzer Zeit, wie der Wurm blitzschnelle Windungen und drehende Schwimmbewegungen ausführt, wobei einzelne Muskelpartien örtlich kontrahiert erscheinen. Kurze Zeit darauf zieht sich der Wurm zusammen und gibt

* Vor einiger Zeit haben E. Werle u. H. Uebelmann [Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 421 (1938)] beobachtet, daß nach relativ hohen Konzentrationen von Rubidium- bzw. Caesiumchlorid ebenfalls rhythmische Kontraktionen an der Rückenmuskulatur des Blutegels auftreten können.

[15] Hueber, E. v., u. D. Lehr: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 25 (1938).

(oft im Strahl) seinen blutigen Inhalt und damit auch den Rest des zugeführten Giftes von sich. Am nächsten Tage sind solche Tiere meist noch etwas schlaff, erholen sich aber in frischem Wasser vollständig. Dieses charakteristische Verhalten ist ganz verschieden von dem nach Zufuhr ähnlicher Mengen von konzentrierter Santoninlösung: Hiernach kommt es nie zu heftigen Muskelkontraktionen und wir konnten nicht beobachten, daß solche Versuchstiere sich anders verhielten, als solche, die zur Kontrolle Wasser per os bekommen hatten. Auch eine deutlich gesteigerte Bewegungsunruhe in Santoninlösung gegenüber Wasser haben wir nicht gesehen. Diese unerwartete Tatsache mag damit zusammenhängen, daß das unverletzte Tier Santonin nur langsam aus dem Darm resorbiert und durch die Nephridien wieder ausscheidet, so daß im Nervensystem nie eine erregende Konzentration auftritt.

Wurde ein Rückenmuskelpräparat zunächst mit Aconitinlösungen von 1 : 100000 in rhythmische Kontraktionen versetzt und dann Santonin in Konzentrationen zugegeben, die am innervierten Präparat stets wirksam gewesen waren, dann trat keinerlei Verstärkung oder Änderung der durch Aconitin angeregten Kontraktionen ein. Wir mußten daher unsere oben erwähnte Annahme über den Wirkungsmechanismus des Santonins als unbewiesen fallen lassen und können nur feststellen, daß offenbar zwischen der Muskulatur des Blutegels und der des Regenwurmes grundlegende Unterschiede bestehen.

Nach unserem Befund einer reinen Nervenwirkung des Santonins schien es uns zweckmäßig, das von Trendelenburg untersuchte und als rein muskulär wirkend erkannte Oleum Chenopodii ebenfalls am Blutegel zu untersuchen.

C. Oleum Chenopodii.

Wie aus Abb. 4 hervorgeht hatte eine Emulsion dieses Öles in Ringer 1 : 10000 auf ein innerviertes Bauchmuskelpräparat (untere Kurve) eine mehrere Minuten anhaltende tonische Wirkung, wobei die Spontanbewegungen zuerst sehr klein wurden. In einer zweiten Phase erfolgte ohne Auswaschen mit Ringer ein Nachlassen der Verkürzung, und es traten rhythmische Bewegungen auf, die fast die doppelte Frequenz der normalen Anfangsbewegungen aufwiesen, und erst allmählich wieder nachließen. Diese Erscheinungen sind ähnlich, wie die von Trendelenburg an Regenwürmern beschriebenen. Ließ man jedoch Oleum Chenopodii (oder auch reines Ascaridol) auf Rückenmuskelpräparate oder entnervte Bauchmuskeln einwirken, dann zeigte sich, wie aus der oberen Kurve in Abb. 4 zu entnehmen ist, ein ganz anderer Wirkungstyp. Es trat, ähnlich wie dies zuerst Führer nach Nikotin oder Eserin + Azetylcholin beobachtet hatte, eine glatte, durch keine Erschlaffung unterbrochene Kontraktur des Muskels ein. Oleum Chenopodii hat demnach wie am Regenwurm auch am Blutegel eine direkte Muskelwirkung. Diese Wirkung ist jedoch auf-

fallend schwach, d. h. sie tritt oft erst nach höheren Konzentrationen (1 : 1000) auf und ist mit Ringer leicht auswaschbar. Darauf ist es auch zurückzuführen, daß die normalen Innervationsimpulse diese Kontraktur durchbrechen können. Die gleiche Erscheinung sieht man auch bei Anwendung von sehr verdünnten Nikotinlösungen (1 : 1 Million) an innervierten Präparaten: Hier wird die Tonuserhöhung den Spontanbewegungen

Abb. 4. Die Wirkung von Oleum Chenopodii auf ein innerviertes Bauchmuskelpräparat vom Blutegel (untere Kurve und untere Zeichen). Die Wirkung auf das gleiche Präparat nach Denervation (obere Kurve und obere Zeichen).

nur überlagert. Bei höheren Nikotindosen erlöschen jedoch mit dem Eintritt der Kontraktur allmählich die Spontanbewegungen. Wir haben also ähnliche Verhältnisse wie an der Warmblütermuskulatur, wo auch der Eintritt der Kontraktur fortgeleitete Impulse, wie sie bei der normalen Innervation auftreten, zum Verschwinden bringt. Die sekundäre Muskellähmung durch Oleum Chenopodii, die Trendelenburg beschreibt, haben wir nicht untersucht. Wir haben nur beobachtet, daß Blutegel, denen man

0,5 ccm einer solchen Emulsion von Oleum Chenopodii in den Darm spritzt, nach 5 Minuten ihre Bewegungen weitgehend einstellen und erschlaffen, ohne daß man vorher ein Erregungsstadium unterscheiden kann. Werden die Tiere jedoch über Nacht in frisches Wasser gebracht, dann erholen sie sich gut.

Besprechung der Ergebnisse.

Nach unseren Befunden und denen früherer Untersucher hat man an der Blutegelmuskulatur dreierlei Arten von Bewegungen zu unterscheiden:

1. Die vom Nervensystem angeregten Bewegungen. Es sind dies alle Bewegungen zu denen ein normales Tier fähig ist. Schneidet man Stücke des ventralen Nervensystems heraus, dann zeigen die zugehörigen Segmente der Bauch- und Rückenmuskeln keine Bewegung mehr. Dies kommt sehr schön zur Geltung, wenn der noch innervierte Teil des Körpers zu kriechen oder zu schwimmen beginnt und sich dabei verlängert und verschmälert: Man sieht dann die denervierten Segmente als ein breites, schlaffes Bandstück. Der Tonus der chronisch denervierten Muskeln geht dagegen nicht völlig verloren, sondern sie kehrten nach passiver Dehnung wieder in die Ausgangslage und darüber hinaus zurück.

Die spontanen rhythmischen Bewegungen werden durch Santonin sehr verstärkt und innervierte Muskelpräparate von Blutegeln stellen das empfindlichste, bisher beschriebene Präparat für solche Wirkungen dar. Andererseits ist es begreiflich, daß manche Autoren[16, 17] mit Blutegelpräparaten keine guten Erfahrungen gemacht haben, da denervierte Muskelstücke gegen Santonin absolut unempfindlich sind — wenigstens in den Konzentrationen, die sich in Ringer eben noch lösen (etwa 1 : 2000). Die Santoninwirkung ist am innervierten Präparat auswaschbar und wie wir bestätigen können an den Laktonring geknüpft — Natrium santoninicum ist unwirksam. Dieser Befund verbietet es, die Nervenwirkung des Santonins auf den Blutegel in Analogie zu der krampferregenden Wirkung dieses Stoffes bei höheren Tieren zu setzen, bei denen bekanntlich auch Salze der Santoninsäure krampfauslösend wirken. Dazu kommt noch die Tatsache, daß bei solchen Würmern, die einen höheren Grad von Muskelautomatie aufweisen, wie z. B. bei Oligochäten (Regenwurm), die rhythmischen Bewegungen durch Santonin ohne Dazwischentreten des Nervensystems verstärkt werden.

2. Rhythmische, rein muskuläre Bewegungen. Obwohl die entnervte Muskulatur der Blutegel nie rhythmische Spontanbewegungen ausführt, können, wie wir gezeigt haben, solche Zusammenziehungen durch Aconitin bewirkt werden. Diese unterscheiden sich in ihrem mechanischen Ablauf in nichts von normalen Spontanbewegungen. Die Tonuszunahme unter Aconitin führt ebenfalls nur die durch Entnervung erschlaffte Muskulatur in die normale Ausgangslage zurück. Die Wirkung kann nicht auf über-

[16] Auell, E.: l. c. — [17] Kochmann, M.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 196 (1931).

lebende Nervenendigungen in der Muskulatur gerichtet sein, da sie auch nach Degeneration dieser Nerven eintritt. Wohl aber ist anzunehmen, daß solche Gifte, wie Aconitin, auf diejenigen Muskelelemente einwirken, die auch den normalen Nervenimpuls fortleiten. Dies sind vermutlich die in der Wurmmuskulatur besonders scharf vom Sarkoplasma getrennten Myofibrillen. Diese Ansicht wird durch den raschen Ablauf der Kontraktionen gestützt.

3. Tonische, langsame und glatte Muskelzusammenziehungen, die am entnervten Muskel durch verschiedene Gifte hervorgerufen werden. Solche Kontrakturen treten vor allem nach Nikotin auf, oder an mit Eserin sensibilisierten Präparaten auch nach Azetylcholin. Wie im Vorangehenden gezeigt wurde, hat auch Oleum Chenopodii und Askaridol eine derartige Wirkung, die sich also am Blutegel deutlich von der Santoninwirkung unterscheiden läßt. Solche Zusammenziehungen führen stets zu Muskelverkürzungen, die weit über dem Ruhetonus liegen. Man kann annehmen, daß sie durch Einwirkung auf das Sarkoplasma zustande kommen. Es handelt sich demnach wohl nicht um Kontraktionen, sondern um „Kontrakturen" im Sinne der neueren Muskelphysiologie. Auch an der Wurmmuskulatur kann, ebenso wie dies Brown[18] an der quergestreiften Warmblütermuskulatur gezeigt hat, der Eintritt der Kontraktur die fortgeleiteten Bewegungsimpulse zum Verschwinden bringen. Wenn die Kontraktur schwach ist (d. h. nicht alle Muskelfasern erfaßt), dann überlagert sie sich nur den spontanen Bewegungen, wie wir dies bei Oleum Chenopodii gesehen haben.

Bei den unter 2. und 3. genannten, durch chemische Stoffe angeregten Bewegungsarten ist jeweils noch der Grad der Auswaschbarkeit zu berücksichtigen. Die Aconitinwirkung ist praktisch nicht auswaschbar, von den Kontrakturen ist die durch Nikotin erzeugte sehr schwer, die durch Azetylcholin erzeugte leichter, und die durch Oleum Chenopodii hervorgerufene besonders leicht auswaschbar.

Zusammenfassung.

1. Es wird ein Nerv-Muskelpräparat vom Blutegel beschrieben, das sich zur Demonstration der erregenden Wirkung des Santonins besonders gut eignet.

2. Santonin wirkt beim Blutegel ausschließlich auf das Nervensystem.

3. Aconitin ist eine für die entnervte Blutegelmuskulatur heftig erregende Substanz und ruft an ihr rhythmische Kontraktionen hervor, die den normalen, vom Nervensystem aus angeregten sehr ähnlich sind.

4. Oleum Chenopodii ruft an entnervten Blutegelmuskeln eine schwache, leicht auswaschbare Kontraktur hervor, die der Nikotin- oder Azetylcholinkontraktur ähnlich ist.

[18] Brown, G. L.: Physiol. Rev. (Am.) **17**, 485 (1937), a. a. O.

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.

Zur Frage der Wirkstoffe in der Mistel.

Von

A. Jarisch und **H. Richter.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. März 1940.)

In der Mistel scheint mit einiger Sicherheit nur ein parasympathischer Reizstoff der Cholingruppe identifiziert zu sein[1]; er bewirkt die unmittelbar nach der Injektion mancher Extrakte auftretende, flüchtige und durch Atropin hemmbare Blutdrucksenkung. Es gibt aber noch eine zweite, mit einer Latenz einsetzende, lange anhaltende, von einer Pulsverlangsamung begleitete und durch Atropin nur wenig abschwächbare Blutdrucksenkung; diese entspricht der in der älteren Mistelliteratur[1] von Gaultier, Corona und Zorzi[2], Busquet und anderen beschriebenen Kreislaufwirkung und ist nach unserer Auffassung die Folge einer Erregung depressorisch wirksamer sensibler Nerven im Herzen und unzertrennbar mit der das Herz tonisierenden und unter Rhythmusstörungen tötenden Wirkung der Mistel verknüpft[3]. Diese Auffassung wurde später durch den Nachweis gestützt, daß auch das Veratrin durch Vermittlung cardialer Rezeptoren den Blutdruck senkt[4], daß somit der für die Erklärung der Mistelwirkung in Anspruch genommene physiologische Apparat auch auf andere Stoffe anspricht. Nun berichten Winterfeld[5] und Dörle[6] unter Berufung auf die pharmakologische Prüfung durch Janssen[7], daß es ihnen gelungen sei, aus der Mistel zwei therapeutisch wirksame Stoffe abzuscheiden, deren einer auf das Herz wirke, während der andere den Blutdruck senke; dieser „Dualismus" der Wirkstoffe steht im Gegensatz zu unserer Anschauung, daß Herz- und Blutdruckwirkung zusammen gehören.

Deshalb unternahmen wir es zu prüfen, ob 1. die herzwirksame Fraktion Winterfelds nicht doch auch eine cardiogen blutdrucksenkende Wirkung besitze und 2. die blutdrucksenkende Fraktion für das Herz wirklich ungiftig sei. Die Fraktionen wurden aus Kiefern- und Pappelmisteln in mehrfachen Darstellungsgängen nach den Angaben von Winterfeld und Dörle, zum Teil von Herrn Professor Fischer im hiesigen pharmakognostischen Institut, zum Teil von uns selbst hergestellt.

---

[1] Lit. Jarisch, A.: Klin. Wschr. **1939**, S. 145. — [2] Corona u. Zorzi: Boll. Soc. med. Parma **4**, Juni 1911. — [3] Henze, C., u. A. Jarisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 707 (1937); **191**, 30 (1938); Jarisch, A.: Wien. klin. Wschr. **1938**, Nr. 37. — [4] Jarisch, A., u. H. Richter: Klin. Wschr. **1939**, S. 185; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 347, 355 (1939). — [5] Winterfeld, K.: Sci. pharm. (Wien. pharm. Wschr.) **1938**, S. 105; Vortrag a. d. Naturforsch.-Versammlung in Stuttgart. — [6] Dörle, E. E.: Über zwei therapeutisch wirksame Inhaltsstoffe der Mistel. Dissert. Freiburg 1938. — [7] Hierzu auch Janssen, S.: Verh. dtsch. pharmak. Ges. **1938**, S. 215.

1. Die „herzwirksame“ Fraktion.

Die Versuche an Frosch[8], Ratte, Kaninchen und Katze brachten in der Tat die gleichen Veränderungen der Herztätigkeit, die uns aus der Prüfung nicht oder wenig gereinigter Mistelextrakte bekannt waren. Die bei intravenöser Injektion herztötende Menge fanden wir, entsprechend der Angabe von Winterfeld beim Kaninchen mit 3—4 mg/kg und bei der Ratte mit 5—6 mg/kg des Pulvers.

Hingegen erwies sich diese Fraktion in unseren Versuchen auch als blutdrucksenkend wirksam, und zwar in genau der gleichen Weise, wie die ungereinigten Extrakte; 0,4—0,8 mg/kg in Einzelgaben von 0,1 mg injiziert, lösten bei der Katze den charakteristischen Drucksturz mit Pulsverlangsamung aus. In dem Versuch der Abb. 1 wurde nach dem

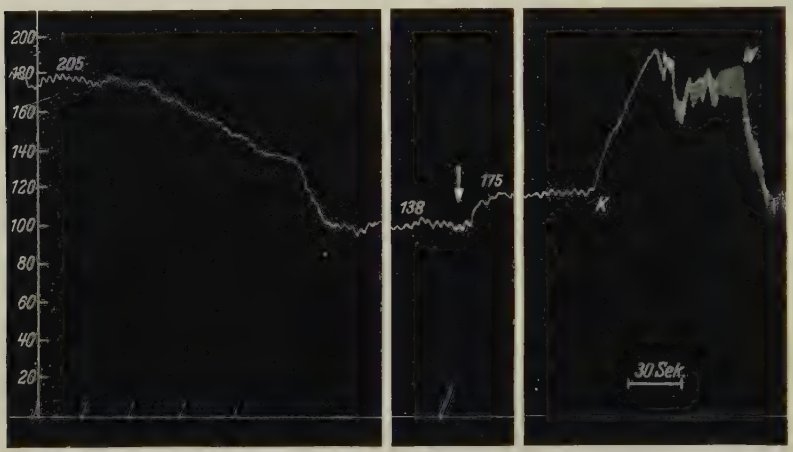


Abb. 1. Katze 3200 g in Chloralosenarkose, Carotisdruck, die Ziffern bedeuten Schlagfrequenzen. I zeigt die einsetzende Blutdrucksenkung nach fraktionierter Injektion des „herzwirksamen“ Stoffes; / bezeichnet die letzten 4 von 13 Injektionen zu 0,1 mg in die Jugularvene. II beim ▼ 0,1 mg Atropin. III zeigt den Erfolg der Kälteblockierung des Halsvagus bei *K*, das Einsetzen der Rhythmusstörungen (Frequenzhalbierung) und die Folge der Wiedereinschaltung des Vagus bei *W*.

Eintreten der Wirkung Atropin gegeben; nun stieg die Herzfrequenz an, aber ohne den Ausgangswert zu erreichen (vgl. Richter und Schröcksnadel[9]) und auch der Blutdruck erhöhte sich etwas (vgl. Henze und Jarisch[3]). Aber erst nach der Kälteblockierung des Halsvagus bei *K* steigt der Blutdruck zum Ausgangswert an und bleibt trotz der einsetzenden Frequenzhalbierung auch weiter hoch; die Wiedereinschaltung des Vagus durch Erwärmung bei *W* läßt ihn wieder abfallen. Dieser Versuch beweist, daß die Druckschwankungen von der Herzfrequenz unabhängig sind,

[8] Richter, H: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 362 (1940). — [9] Richter, H., u. H. Schröcksnadel: Ebenda **191**, 23 (1938).

somit vasomotorischen Ursprungs sein müssen und über den Vagus gesteuert werden. — Bei der Analyse der Veratrinwirkung ließ sich zeigen, daß die reflektorisch den Blutdruck senkende Erregung aus dem Kammerabschnitt des Herzens stammt; das gleiche ist nun auch bei dem Winterfeldschen herzwirksamen Mistelstoff der Fall, denn seine Wirkung auf den Blutdruck und die Herzfrequenz endet, sobald man die Kammernerven durch Novokain oder Veratrin ausschaltet. In dem Versuch der Abb. 2 wurde zunächst der Winterfeldsche Stoff fraktioniert injiziert, bis die Blutdrucksenkung mit der Pulsverlangsamung eintrat und dann wurde auf den in einen Gazestreifen gehüllten Ventrikelteil des Herzens 1 ccm einer 0,1‰igen Veratrinlösung aufgetropft; nun stiegen Blutdruck und Frequenz sofort an und der Erfolg einer kurzen Faradisierung des rechten Halsvagus bewies, daß die efferenten herzhemmenden Vagusfasern durch die Anaesthesierung der Kammeroberfläche mit Veratrin nicht in Mitleidenschaft gezogen worden waren. — Injiziert man die wirksame Dosis nicht fraktioniert, sondern auf einmal, dann steigt der Blutdruck zunächst etwas an und der Drucksturz mit der Pulsverlangsamung folgt erst nach einer gewissen Latenz, genau so wie beim Rohextrakt[3].

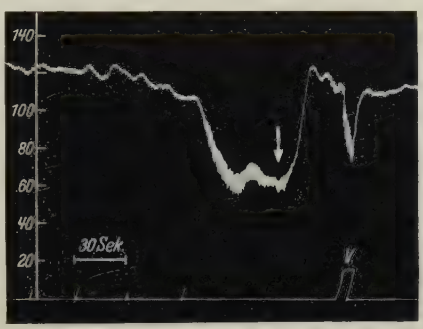


Abb. 2. Katze 2500 g in Chloralosenarkose, Ventrikelteil des Herzens in einen Gazestreifen eingeschlagen. / bezeichnet die letzten 4 von 15 Injektionen des „herzwirksamen" Stoffes zu 0,1 mg. Beim ▼ wird 1 ccm einer 0,1‰ Veratrinlösung auf die Ventrikel getropft. Bei *V* wird der rechte Halsvagus mit Rollenabstand 13 faradisiert.

Nach dem Ausfall dieser Versuche kann es keinem Zweifel unterliegen, daß der von Winterfeld und Dörle isolierte herzwirksame Stoff auch die Ursache der bei den ungereinigten Extrakten beschriebenen lange anhaltenden, durch Atropin nur wenig abschwächbaren und ihrem Wesen nach cardial-reflektorischen Drucksenkung ist.

2. Die „blutdrucksenkende" Fraktion.

Während die Darstellung des herzwirksamen Pulvers unter Befolgung der Angaben von Winterfeld und Dörle ohne weiteres gelang, ergaben sich bei der Darstellung der angeblich nur auf den Blutdruck wirksamen Fraktion Schwierigkeiten, indem teils überhaupt nichts, teils Fraktionen ganz verschiedener Wirkungsstärke anfielen. Diese Wirkung bestand aus Blutdrucksenkung mit Pulsverlangsamung, die durch Kälteblockierung des Vagus prompt aufgehoben werden konnten und denen Rhythmusstörungen und schließlich Herztod mit tonischer Kontraktur folgten. Die Wirkung war also grundsätzlich die gleiche wie bei der ersten Fraktion und bei den ungereinigten Extrakten. Da zur Abtrennung des „blutdruck-

senkenden" Stoffes eine alkoholische Cholesterinlösung in einen die „herzwirksame" Fraktion angereichert enthaltenden, wässerigen Extrakt eingetragen wird, liegt es durchaus im Bereich der Möglichkeit, daß bei der eintretenden Fällung des Cholesterins unkontrollierbar viel von dem herzwirksamen Stoffe mitgerissen wird.

Dafür, daß in beiden Winterfeldschen Fraktionen der gleiche Wirkstoff, aber verschieden stark angereichert vorliegt, spricht auch der Umstand, daß sich das Verhältnis der die Blutdrucksenkung auslösenden Menge zur herztötenden bei beiden Fraktionen trotz der absolut verschiedenen Wirkungsstärken als gleich erwies. — Die Annahme von Fischer und Toth[10], die stärkere Verdünnung, in der der Wirkstoff der ersten Fraktion in der zweiten vorliege, habe die ausschließliche Wirkung auf den Blutdruck vorgetäuscht, trifft durchaus zu, denn bei starken Mistelpräparaten steht symptomatisch die Herzwirkung und bei schwächeren die Blutdrucksenkung im Vordergrund.

Das Prädikat „therapeutisch", das Winterfeld und Dörle ihren Mistelstoffen beilegen, ist bedenklich, denn es ist klinisch bisher weder eine Wirkung der Mistel auf das Herz, noch eine auf den Blutdruck erwiesen. Zwar erscheinen periodisch Berichte medizinischer Schriftsteller über Heilwirkungen von Misteltropfen, doch bleibt die Schulmedizin andauernd zurückhaltend und zwar, wie uns scheint, nicht aus Böswilligkeit, sondern mit Recht, denn die so stark wirksamen Inhaltstoffe der Mistel werden peroral nicht, oder nur um den Preis einer schweren Veränderung der Darmschleimhaut resorbiert[1]; das gilt von den ungereinigten Extrakten und ebenso von dem Winterfeldschen hochwirksamen Stoffe. Da aber die Mistel nun einmal an sich außerordentlich beliebt ist und die Geschichte ihrer Anwendung den seltsamsten Wechsel der Indikationen erkennen läßt, Epilepsie, Asthma, Menstruationsbeschwerden, bösartige Geschwülste, Lungenblutungen, Arteriosclerose, Paradentose, Hochdruck, Arthritis und noch einmal bösartige Geschwülste, könnte es geschehen, daß die Misteltropfen noch zum gepriesenen Herzmittel werden, wenn man die Inhaltsstoffe „therapeutisch" nennt.

Zusammenfassung.

Der von Winterfeld in großer Reinheit isolierte herzwirksame Stoff der Mistel ist gleichzeitig auch der Träger der bei den Rohextrakten beschriebenen, vom Herzen ausgehenden und den Blutdruck reflektorisch senkenden Wirkung. Eine weitere blutdrucksenkende Substanz ist, von den cholinartigen Stoffen abgesehen, bisher nicht erwiesen.

[10] Fischer, R., u. D. Thoth: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 472 (1939).

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Leipzig
(Direktor: Prof. Dr. M. Bürger.)

Über die Wirkung gefäßaktiver Substanzen auf den peripheren Kreislauf beim Menschen.

Von

H. Göpfert*, F. Gross und K. Matthes.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. Februar 1940.)

Die Reaktionen verschiedener Provinzen der Kreislaufperipherie auf Pharmaca im Tierexperiment sind in den letzten Jahren, dank der besonders von H. Rein und K. Kramer entwickelten Methoden, häufig Gegenstand ausführlicher Untersuchungen gewesen. Diese Methoden sind beim Menschen nicht anwendbar und die für Untersuchungen am Menschen geeigneten Methoden von Brömser und Wezler geben wohl wertvollen Aufschluß über die Gesamtkreislauflage, sie ermöglichen aber keinen genaueren Einblick in lokale Regulation des peripheren Kreislaufs. Wir sind also für die Erfassung derartiger Vorgänge beim Menschen vielfach auf die Analogie des Tierexperiments angewiesen. Viele der in letzter Zeit für die Therapie beim Menschen empfohlenen Medikamente leiden infolgedessen an einer etwas einseitigen Begründung ihrer Wirkung auf die Erfahrung des Tierexperiments.

Die von Matthes und Mitarbeitern in den letzten Jahren ausgearbeiteten Methoden sind vielleicht geeignet, diese Lücke wenigstens teilweise zu schließen. Mit diesen Methoden ist es möglich, beim Menschen folgende Untersuchungen anzustellen:

1. Fortlaufende Aufzeichnung von Änderungen des Blutgehaltes und der durch Schwankungen der Sauerstoffsättigung des Blutes bedingten Änderungen der Farbe des Blutes in peripheren Organabschnitten (Ohr, Finger, Zehen). Gleichzeitige Registrierung der Hauttemperatur läßt den Wechsel der Durchblutung der Haut erkennen (1, 2, 3). Es können so Änderungen der Durchblutung, des Blutgehaltes und der Sauerstoffausnutzung nebeneinander erfaßt werden.
2. Formgetreue Aufzeichnung peripherer Volumenpulse, die mit den zugehörigen Arterienpulsen verglichen werden können (4, 5).
3. Ermittlung der Geschwindigkeit des Blutstroms in verschiedenen Teilgebieten des Kreislaufs (6, 7).

* Stipendiat der W. G. Kerckhoff-Stiftung in Bad Nauheim.

Diese Arbeit soll zeigen, wie diese Methoden einzeln und in Kombination bei der Analyse der Kreislaufwirkung intravenös injizierter Pharmaca Verwendung finden. So wurde die Einwirkung der Pharmaca auf Durchblutung, Blutgehalt und Sauerstoffausnutzung, zuerst an den Fingern, dann gleichzeitig an Finger und Ohr, Ohr und Zehen, studiert. Gerade die gleichzeitige Untersuchung dieser Reaktionen an mehreren Punkten der Körperperipherie vermittelt einen guten Eindruck von dem Verhalten des einzelnen peripheren Organs im Rahmen der gesamten Kreislaufreaktion. Periphere Volumenpulse, Arterienpulse und Elektrokardiogramm wurden gleichzeitig mit den oben genannten Registrierungen aufgezeichnet. Es konnten so die Änderungen der Pulsform in Beziehung gesetzt werden zu den gleichzeitigen Änderungen der Durchblutung und des Blutgehaltes.

Methodik.

Um die Schwankungen des Blutgehaltes der Finger und die mittlere Farbe (O_2-Sättigung) des in den Fingern zirkulierenden Blutes aufzuzeichnen, wurden die Finger mit einer wassergekühlten 900 Watt-30 Volt-Osramlampe durchleuchtet. Das Licht fiel durch die Finger auf einen im Winkel von 45° stehenden Rhodiumspiegel. Dadurch wird das Lichtbündel geteilt. Die Hälfte wird durchgelassen und fällt auf eine ultrarotempfindliche Phonopreßzelle mit Ultrarotfilter 83. Die andere Hälfte wird reflektiert und fällt auf eine rotempfindliche Sperrschichtphotozelle. Die Photoströme der Zellen wirken ohne Verstärker auf hochempfindliche Registrierinstrumente. Wir verwandten zur Registrierung des Stromes der Ultrarotzelle einen Siemens-Stromelektrokardiographen, während der Strom der rotempfindlichen Zelle von einem Edelmann-Saitengalvanometer aufgezeichnet wurde. Durch die Verwendung derartiger trägheitsarmer Registrierinstrumente ist es möglich, auch die herzsynchronen peripheren Volumenpulse formgetreu zur Darstellung zu bringen. Der Photostrom der Ultrarotzelle zeichnet unter diesen Umständen ein reines Plethysmogramm des Fingers auf, da die Ultrarotzelle gegen Schwankungen der Blutfarbe, die durch Änderungen der O_2-Sättigung bedingt sind, nahezu unempfindlich ist. Die rotempfindliche Sperrschichtzelle schreibt naturgemäß ebenfalls ein Plethysmogramm auf. Im Photostrom dieser Zelle kommen aber auch die Schwankungen der Blutfarbe (O_2-Sättigung des Blutes) zum Ausdruck, da reduziertes Blut im roten Licht viel weniger durchsichtig ist als sauerstoffgesättigtes. Bei Beginn des Versuches werden Ultrarot- und Rotlichtkurve auf gleiche Empfindlichkeit gegenüber Schwankungen des Blutgehaltes eingestellt. Es genügt dazu näherungsweise die Betrachtung der relativen Größe der herzsynchronen Volumenpulse. Eine genauere Einstellung ist möglich, wenn man die Wirkung einer kurzdauernden Venenstauung (Preßdruck) beobachtet bzw. registriert.

In allen Kurven bedeutet ein Ausschlag nach oben, der gleichmäßig in Rot- und Ultrarotkurve erscheint, eine Zunahme des Blutgehaltes

= Abnahme der Lichtdurchlässigkeit des Fingers. Ein Ausschlag der Rotlichtkurve, dem kein gleicher Ausschlag der Ultrarotkurve entspricht, bedeutet eine Änderung der Farbe des im Finger kreisenden Blutes, und zwar bedeutet ein Ausschlag nach oben eine Abnahme der Lichtdurchlässigkeit = Abnahme der Sauerstoffsättigung des Blutes. Bei Schwankungen der Sauerstoffsättigung des Blutes ändert sich daher der Abstand der Rotlichtkurve von der Ultrarotkurve, während die Ultrarotkurve selbst die Schwankungen des Blutgehaltes unverfälscht wiedergibt. Die Hauttemperatur der Fingerspitzen wurde mit zwei in Serie geschalteten Konstantan-Kupfer-Thermoelementen aufgezeichnet. Die Fingerkuppe des Daumens berührte die registrierenden Lötstellen, während die Vergleichslötstellen sich bei 31° C in einer Thermosflasche befanden. Das Verhalten der Hauttemperatur gibt einen qualitativen Maßstab für Änderungen der Hautdurchblutung. Zur Registrierung des Blutgehaltes und der Blutfarbe an den Zehen wurde die gleiche Anordnung verwandt. Zur Aufzeichnung der gleichen Dinge an der Ohrmuschel benutzten wir eine kleine Apparatur, die mit Hilfe eines Stirnreifens befestigt werden konnte. Eine 6 Volt—30 Watt-Lampe mit Wasserkühlung durchleuchtete die mit Hilfe einer mit Schraube regulierbaren Ringklemme fixierte Ohrmuschel. Das Licht fiel auf den Rhodiumspiegel und je eine kleine rot- und ultrarotempfindliche Photozelle. Die Photoströme wurden mit Ruhstrat-Spiegelgalvanometern registriert. Die Hauttemperatur wurde durch ein am Jochbogen fixiertes Doppelthermoelement gemessen. Es erwies sich in vielen Versuchen zweckmäßig, die Vorgänge am Ohr und an den Fingern oder den Zehen gleichzeitig zu registrieren. Aus räumlichen Gründen war es nicht möglich, beides auf einen Filmstreifen zu bringen. Infolgedessen mußte mit zwei räumlich getrennten Photokymographien gearbeitet werden. Eine exakte Synchronisierung der Antriebsmotoren der Kymographien war nicht möglich. Eine genaue zeitliche Koordinierung der beiden Filmstreifen wurde dadurch ermöglicht, daß sowohl die Zeitmarken als die Signalmarken durch in Serie geschaltete Signalmagneten streng gleichzeitig erfolgten. Außerdem wurde das Pneumotachogramm auf beiden Filmstreifen verzeichnet. Auch die Messungen der Blutgeschwindigkeit, über die in dieser Arbeit berichtet wird, wurden mit der gleichen Anordnung vorgenommen. Es wurden stets gleichzeitig Rotlicht- und Ultrarotlichtkurven an Ohr und Finger registriert [Matthes und Schleicher (7)].

Die beschriebene Anordnung gestattet zwar eine formgetreue Registrierung auch der herzsynchronen peripheren Volumenpulse an der Hand. Die Amplitude dieser Pulse ist jedoch sehr klein gegenüber den viel größeren langsamen Schwankungen der Lichtdurchlässigkeit der Finger, die durch Änderungen der Blutfarbe und der Blutfüllung der Finger bedingt sind. Auch erfordert eine gute Registrierung der Pulse eine viel größere Filmgeschwindigkeit als bei der Aufzeichnung der langsamen Schwankungen von Blutfülle, Blutfarbe und Hauttemperatur zweckmäßig ist. Wir haben

daher diese Registrierungen gleichzeitig mit zwei verschiedenen Photokymographien vorgenommen. Das eine Kymographion mit langsamer Filmgeschwindigkeit registrierte, wie oben angegeben, Rotlicht- und Ultrarotlichtdurchleuchtungskurve der Finger, Hauttemperatur und Atmung. Das zweite Kymographion, mit sehr viel schnellerer Filmgeschwindigkeit, zeichnete den peripheren Volumenpuls, den Kubitalispuls (mit Lufttransmission nach O. Frank) und das Elektrokardiogramm auf. In einigen Versuchen wurde daneben noch die Atmung und der Radialispuls aufgezeichnet. Während auf dem langsam laufenden Filmstreifen der Gesamtablauf der pharmakologischen Reaktion festgehalten wurde, registrierte das schnellaufende Kymographion nur einzelne Ausschnitte des Vorgangs. Das An- und Abstellen des so schnellaufenden Filmstreifens wurde auf dem langsamlaufenden markiert. Es ist dadurch möglich, jederzeit anzugeben, welche Pulse innerhalb des gesamten Reaktionsablaufs, sozusagen in Großaufnahme, registriert worden sind. Der periphere Volumenpuls wurde mit einer Ultrarotzelle (ohne Filter) aufgenommen. Der Photostrom wurde einem Einröhrengleichspannungsverstärker und weiter der Registrierschleife eines Siemens-Stromelektrokardiographen zugeführt. Durchleuchtet wurde die äußerste Spitze des Zeigefingers, die in einer Ringklemme fixiert war, mit einer wassergekühlten 30 Watt-Lampe. Der Strom zu der Lampe (6 Volt) wurde durch Akkumulatoren geliefert [Matthes, Gross, Göpfert (5)].

Alle untersuchten Pharmaca wurden intravenös injiziert. Nach dem Einstechen in die Vene tritt jedesmal ein deutlicher Gefäßreflex auf mit Abfall der Hauttemperatur und Abnehmen des Blutgehaltes, besonders am anderen Arm. Dieser Reflex muß abgewartet werden. Wir warteten daher nach dem Einstechen stets so lange, bis die Hauttemperatur des registrierten Fingers zur Norm zurückgekehrt war (durchschnittlich 3—5 Minuten). Die Reflexe vom Arm auf den Kopf sind auch nachweisbar, aber viel weniger ausgeprägt. Als Versuchspersonen dienten in allen Versuchen die Autoren der Arbeit.

Ergebnisse.

Abb. 1 zeigt die Wirkung einer Injektion von 20 γ Adrenalin intravenös. Es wurde die Lichtdurchlässigkeit des Ohres und der Finger sowie die entsprechende Hauttemperatur aufgezeichnet.

In allen Kurven findet sich ein Abfall der Hauttemperatur, der nach etwa 3 Minuten einem Anstieg der Temperatur über das Ausgangsniveau Platz macht. Der systolische Blutdruck wurde während der Registrierung der Kurven nach Riva Rocci gemessen, er zeigte einen Anstieg von 30—40 mm Hg. Am einfachsten erscheint der Ablauf am Ohr. Gleichzeitig mit dem Abfall der Hauttemperatur sehen wir einen Abfall = Abnahme des Blutgehaltes, sowohl in der Rot- als in der Ultrarotkurve. Das entspricht einer Abnahme

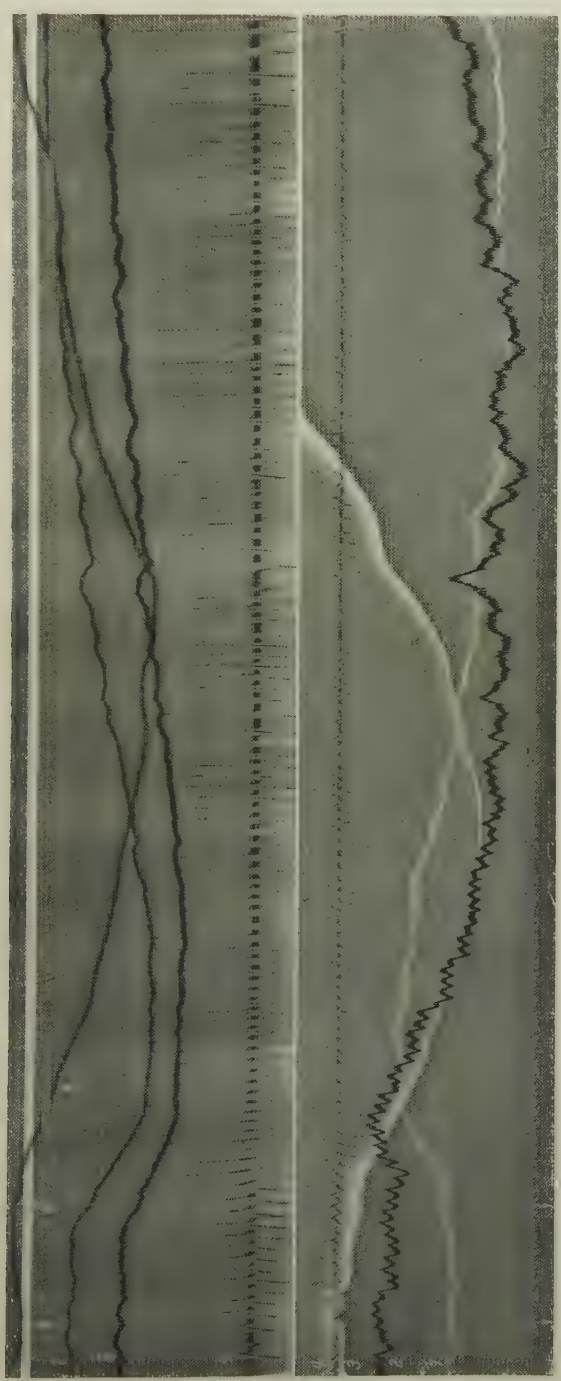


Abb. 1. Obere Kurve: Durchleuchtung des Ohrs. 1. Rotlichtkurve, 2. Ultrarotlichtkurve, 3. Hauttemperatur, 4. Atmung. — Untere Kurve: Durchleuchtung der Finger. Die Bezeichnungen entsprechen denen der oberen Kurve. Beide Kurven wurden gleichzeitig registriert. Zwischen den Marken Injektion von 20 γ Adrenalin.

des Blutgehaltes ohne jede Änderung der Blutfarbe. Also Abnahme der Hautdurchblutung bei gleichzeitiger Engerstellung der Hautgefäße ohne gleichzeitige Änderung der Sauerstoffausnutzung des Blutes. Mit dem Wiederanstieg der Hauttemperatur kehrt auch der Blutgehalt des Ohres zur Norm zurück. Die Blutfarbe ändert sich nicht. Ganz andere Wirkungen sehen wir an der Hand und an den Zehen. An der Hand ebenfalls Abnahme der Ultrarotkurve, also Abnahme des Blutgehaltes der Finger. Die Rotlichtkurve folgt aber nicht parallel der Ultrarotkurve, sondern weicht stark nach oben ab, entsprechend einer Abnahme der Durchsichtigkeit des Blutes infolge Abnahme der Sauerstoffsättigung. Die Engerstellung der Hautgefäße, die die Abnahme der Hauttemperatur begleitet, führt also an den Fingern zu einer stärkeren Venosierung des Blutes. Es ist leicht zu verstehen, daß der Blutsauerstoff bei der verminderten Hautdurchblutung besser ausgenutzt wird. Beim Wiederanstieg der Hauttemperatur kehren sich diese Verhältnisse um. Die Rotlichtkurve kreuzt die Ultrarotkurve. Die Sauerstoffsättigung des Blutes wird besser. An den Zehen ist die Vermehrung der Ausnutzung des Blutsauerstoffs neben der Temperaturabnahme der am meisten auffallende Teil der Adrenalinwirkung. Die Abnahme des Blutgehaltes ist hier nur sehr wenig ausgeprägt. Beim Wiederanstieg der Hauttemperatur bessert sich auch hier die Sauerstoffsättigung des Blutes. Sie steigt weit über ihren Ausgangswert an. Ein entsprechendes Verhalten zeigte sich in allen Versuchen, die an drei Versuchspersonen angestellt wurden. Immer zeigte sich am Ohr eine starke Engerstellung der Hautgefäße ohne Änderung der Blutfarbe, während an den Fingern und Zehen die Vermehrung der Ausnutzung des Blutes sehr deutlich war. Die Gefäßverengung nach Adrenalin war stets am Ohr besonders ausgeprägt. Sie setzt auch stets früher ein als an den Fingern. An den Fingern sahen wir sogar häufig im Anfang der Adrenalinwirkung gleichzeitig mit deutlicher Gefäßverengung am Ohr eine vorübergehende Zunahme des Blutgehaltes (Abb. 1), die nach 10—15 Sekunden der Abnahme des Blutgehaltes Platz macht. (Eine Beobachtung zeigte uns eine längerdauernde Zunahme des Blutgehaltes an den Fingern.)

Diese initiale Zunahme des Blutgehaltes ist nicht einfach als druckpassiv zu erklären, da sie ebenso wie die Gefäßverengung am Ohr stets von einer Abnahme der Hauttemperatur, also von einer Verminderung der Hautdurchblutung begleitet war. Der arterielle Widerstand muß also auch in den Fingergefäßen so stark vermehrt sein, daß trotz Blutdruckanstieg die Durchblutung sinkt. Die Amplitude der herzsynchronen Volumenpulse ist schon im Stadium des initialen Anstiegs des Blutgehaltes der Finger stark vermindert (Abb. 1). Die Zunahme des Blutgehaltes kann daher nicht durch druckpassive Ausweitung der zentral vom Hauptwiderstand gelegenen Arterienteile verursacht sein. Es muß daher der Blutgehalt der Kapillaren oder der Hautvenen der Finger im Anfang der Adrenalinwirkung in einigen Fällen zugenommen haben. Später werden wir auch das Verhalten des Venendruckes unter diesen Umständen zu untersuchen haben. Am Ohr ist schon aus hydrostatischen Gründen der Abfluß des Venenblutes sehr erleichtert. Dies mag dazu beitragen, daß eine initiale Zunahme des Blutgehaltes dort niemals eintritt.

Im ganzen bedeutet die Abnahme des Blutgehaltes der Haut, die im Ohr und etwas später auch an den übrigen Registrierorten nachweisbar ist, die Bereitstellung einer großen Menge von „Depotblut" im Rahmen der Adrenalinwirkung. Die Beobachtung, daß am Ohr nach Adrenalin die Sauerstoffsättigung des Blutes unverändert bleibt, während sie an Finger und Zehen stark abnimmt, läßt darauf schließen, daß die durch Adrenalin bewirkte Drosselung der Hautdurchblutung am Kopf weniger stark ist als an den Extremitäten. Natürlich sind auch andere Erklärungen möglich. Am Ohr könnte so der Stoffwechsel, entsprechend den Befunden von Rein (8), am Muskel gleichzeitig mit der Durchblutung gedrosselt sein. Es ist aber schwer zu verstehen, warum dies nicht an den Fingern auch der Fall sein soll. Man müßte zur Erklärung des Unterschiedes wiederum annehmen, daß die Verminderung der Durchblutung am Finger relativ stärker sei.

Bestimmungen der Blutgeschwindigkeit nach Injektion von Adrenalin wurden nach der N_2-Atemmethode ausgeführt. Wir fanden in mehreren Versuchen keinen eindeutigen Unterschied im Zeitbedarf des Blutes für die Wegstrecke Lunge–Ohr und Lunge–Finger. Als Beispiel seien die Werte eines Versuches wiedergegeben. Vor Adrenalin Lunge–Ohr (L. O.) = 3,5 Sekunden, Lunge–Hand (L. H.) = 18,5 Sekunden; 40 Sekunden nach Adrenalin L. O. = 3,6, L. H. = 19 Sekunden; 80 Sekunden nach Adrenalin L. O. = 4,0, L. H. = 19 Sekunden; 160 Sekunden nach Adrenalin L. O. = 3,6, L. H. = 18,5 Sekunden; 4 Minuten nach Adrenalin L. O. = 3,6, L. H. = 18,5 Sekunden; 5 Minuten nach Adrenalin L. O. = 3,6, L. H. = 18 Sekunden. Bei allen Versuchen war es jedoch auffällig, daß an den Fingern der Abfall der O_2-Sättigung nach Stickstoffatmung bei den ein bis zwei Bestimmungen unmittelbar nach der Injektion nur sehr spärlich ausfiel, oft so gering, daß ein Ausmessen nicht möglich war. Die gleichzeitig registrierte Ohrkurve zeigte schon unmittelbar nach der Injektion einen sehr starken Abfall der Sauerstoffsättigung beim Anhalten des Atems nach den N_2-Atemzügen. Daraus muß der Schluß gezogen werden, daß unmittelbar nach der Adrenalininjektion zum Finger relativ viel weniger Blut gelangt als zum Ohr. Wenn trotzdem die Blutgeschwindigkeit nicht erheblich verlangsamt gefunden wurde, so kann das verschiedene Ursachen haben, einmal kann mit der Abnahme der Durchblutungsgröße auch das Kaliber der arteriellen Strombahn verringert sein und zweitens braucht die Durchblutung der Muskulatur nicht im gleichen Maße gedrosselt zu sein als die Hautdurchblutung. Die Blutgeschwindigkeit kann daher in der Hauptarterie trotz stark gedrosselter Hautdurchblutung hoch bleiben.

Die Annahme, daß die Durchblutung des Fingers nach Adrenalin stärker gedrosselt wird als die des Ohres, stimmt gut überein mit der Beobachtung, daß am Finger, aber nicht am Ohr, die Ausnutzung des Blutsauerstoffs vermehrt ist.

Das Verhalten der herzsynchronen Volumenpulse nach Adrenalin läßt sich schon nach Abb. 1 an den Fingerkurven annähernd beurteilen. Man sieht, daß die Amplitude dieser Pulse unmittelbar nach der Injektion sich stark verkleinert, während später im Stadium der wieder ansteigenden Hauttemperatur sehr große Pulsamplituden beobachtet werden. Unmittelbar nach der Adrenalininjektion treten ferner sehr häufig starke respiratorische Schwankungen der Blutfülle der Finger auf. Genauer können die Pulsformen in Abb. 2 beurteilt werden. Man sieht in der oberen Kurve eine typische Adrenalinreaktion am Finger mit sehr starkem Absinken der Sauerstoffsättigung des Fingerblutes. Die untere Kurve zeigt das Verhalten von Cubitalispuls, Fingerpuls und Elektrokardiogramm zu verschiedenen in der oberen Kurve durch Pfeile markierten Zeitmomenten. Man sieht, daß die Amplitude des peripheren Volumenpulses nach Adrenalin sehr stark abnimmt, während die Amplitude des Cubitalispulses nahezu gleich bleibt. Diese Abnahme der Pulsamplitude in den peripherstен arteriellen Verzweigungen bei steigendem Blutdruck und gleichbleibender Pulsamplitude in den größeren Arterien muß als Zeichen der Vasokonstriktion in den peripheren Verzweigungen gewertet werden. Der Arterienpuls wird nach Adrenalin deutlich dikrot. Die Dikrotie muß nach O. Frank (9) und Wezler (10) als Resonanz zwischen der erregenden Schwingung (Systolendauer) und der Eigenschwingung des Radialis-Brachialisrohres gedeutet werden. Wir sehen auch in unseren Kurven eine Verkürzung der Systolendauer nach Adrenalin (als Begleiterscheinung der auftretenden Tachykardie), sowie eine Verlängerung der Eigenschwingungsdauer des Cubitalispulses. Die Verlängerung der Eigenschwingungsdauer des Cubitalispulses tritt auf trotz steigendem Blutdruck und trotz Zunahme der Pulswellengeschwindigkeit im Cubitalis-Brachialisrohr (in Abb. 2 kann der Abstand der *S*-Zacke des Elektrokardiogramms vom Fußpunkt des Cubitalispulses als relatives Maß der Pulswellengeschwindigkeit gewertet werden), es müssen sich daher bei konstanter Arterienlänge die Lage der Reflexionsstellen am peripheren Arterienende bzw. die Reflexionsbedingungen in dem Sinne geändert haben, daß die Wellenlänge der Eigenschwingung des Cubitalis-Radialisrohres zunimmt. Diese Änderung der Reflexionsbedingungen am peripheren Arterienende geht einher mit einer starken Vasokonstriktion der kleinsten Hautarterien (Größenabnahme des peripheren Pulses), sowie mit einer Abnahme des Blutgehaltes der Haut und der Hautdurchblutung.

Die Form des peripheren Fingerkuppenpulses entspricht der des Cubitalispulses. Zur Zeit des dikroten Pulses findet sich eine fast völlige Übereinstimmung der Pulsformen. Bei erkennbarem Zwischenschlag im Cubitalispuls erscheint dieser im peripheren Puls überhöht. Er wird häufig zum Hauptmaximum der Kurve [vgl. Matthes, Gross und Göpfert (5)].

In einigen Versuchen wurden neben dem Cubitalispuls und dem Fingerpuls auch der Radialispuls registriert. Es konnten dann die Puls-

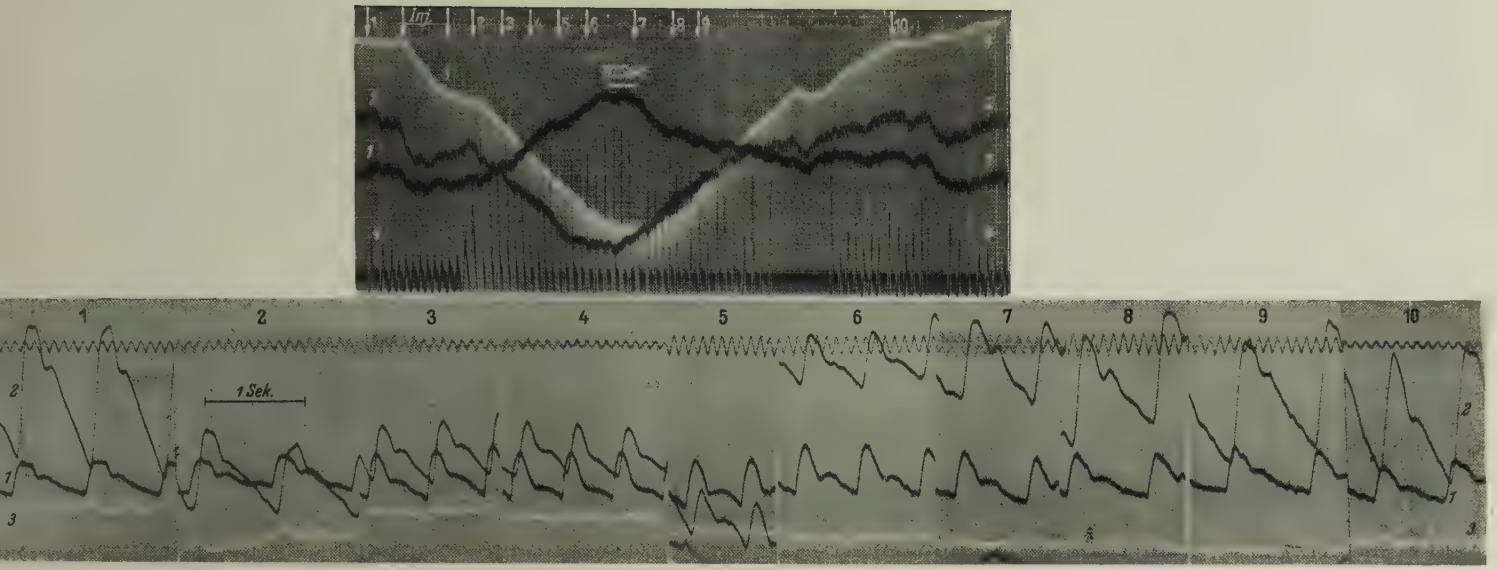


Abb. 2. Injektion von 20 γ Adrenalin i. v. Obere Kurve: Handdurchleuchtung. 1. Rotlichtkurve, 2. Ultrarotlichtkurve, 3. Hauttemperatur, 4. Atmung. Die untere Kurve stellt den Cubitalispuls (1), den Fingerpuls (2) und das Ekg (3) der gleichen Versuchsperson dar, die gleichzeitig mit der oberen Kurve aufgenommen wurde. Die einzelnen Abschnitte der Pulskurve (1–10) entsprechen den durch die Pfeile markierten Zeitmomenten der oberen Kurve.

wellengeschwindigkeiten auf den Strecken Cubitalis, Radialis und Radialis – Fingerkuppe gemessen werden. Als Beispiel sei ein Versuch angeführt, bei dem in der Ruhe die Wellengeschwindigkeit Cubitalis–Radialis (C.–R.) 7,8; Radialis–Finger (R.–F.) 4,4 Sekunden betrug. Es wurden 20 γ Adrenalin während 30 Sekunden injiziert. 20 Sekunden nach Ende der Injektion war C.–R. = 9,6; R.–F. = 5,6 Sekunden; 60 Sekunden später war C.–R. = 8,7, R.–F. = 4,7 Sekunden. Wir fanden in diesem und allen übrigen Versuchen eine ziemlich gleichmäßige Zunahme der Wellengeschwindigkeit im peripheren und zentraleren Arterienabschnitt. Die sehr starken Zunahmen der peripheren Wellengeschwindigkeit, die Greven und Federschmidt (11) nach Adrenalinstoßinjektion sahen, konnten wir nie beobachten, was wahrscheinlich seinen Grund in unseren kleineren Adrenalindosen sowie in der langsamen Injektionsgeschwindigkeit hat.

Die Pulswellengeschwindigkeit ist in den peripher sten arteriellen Verzweigungen fast stets langsamer als in den mittleren Arterien [Hauck (13), Matthes, Gross und Göpfert (5)]. Dies könnte auf ein besonders niedriges Volumenelastizitätsmodul und damit auf eine besonders große Dehnbarkeit der peripher sten Gefäße hindeuten. Nach einer von O. Frank (12) gegebenen Ableitung, auf die Greven und Federschmidt (11) hinweisen, hat aber auch die Reibung einen Einfluß auf die Pulswellengeschwindigkeit, die bei sehr kleinem Gefäßradius eine Abnahme der Wellengeschwindigkeit bewirkt. Die Pulswellengeschwindigkeit kann daher in der äußersten Peripherie des arteriellen Systems nicht einfach als Maß der Gefäßelastizität betrachtet werden. Greven und Federschmidt (11) versuchen auch die Form des peripheren Volumenpulses (Fingerkuppenpuls) bzw. die Abweichung der Form des Fingerpulses vom Radialispuls durch eine starke Verlangsamung der Wellengeschwindigkeit in der äußersten Kreislaufperipherie zu erklären. Die Volumenpulse der Fingerkuppe werden als integrierte Druckpulse aufgefaßt, wie dies für den Volumenpuls größerer in Plethysmographen eingeschlossener Gliedabschnitte seit langem geläufig ist. Nimmt man in der äußersten Arterienperipherie sehr langsame Wellengeschwindigkeiten (von wenigen cm/Sek.) an, so kann auch die kurze Arterienstrecke (vom äußersten Ende der Digitalarterie in der Fingerkuppe bis zu der Kapillaren) durch Integration der diese Strecke entlanglaufenden Pulswelle Entstellungen der Volumenpulskurve bewirken, die den tatsächlich beobachteten Pulsformen ähnlich sind. Es ist jedoch von diesem Standpunkt aus schwer zu erklären, daß oft eine weitgehende Übereinstimmung von Arterienpulskurve und peripherer Volumenpulskurve beobachtet wird, ohne daß die Wellengeschwindigkeit auf der Strecke Radialis—Fingerkuppe schneller ist als in anderen Fällen, in denen sehr erhebliche Abweichungen beider Pulsformen vorhanden sind. Weitgehende Übereinstimmung von Arterienpuls und Fingerpuls findet sich meist bei dikroten Arterienpulsen auch dann, wenn die Wellengeschwindigkeit auf der Strecke Radialis—Finger geringer ist als normal (wie z. B. oft nach Amylnitritwirkung). Wir haben aber auch bei Arterienpulsen mit sehr deutlichem Zwischenschlag periphere Volumenpulse beobachtet, die in der Form mit dem Radialispuls nahezu völlig übereinstimmten, während in anderen Fällen bei sehr ähnlicher Pulsform des Radialispulses der Fingerkuppenpuls vom Radialispuls sehr verschieden war. Auch in diesen Fällen bot die Messung der Wellengeschwindigkeit keine Erklärung für das verschiedene Verhalten. Wir glauben daher, daß neben der fälschenden Wirkung dieses Integrals mit anderen Momenten gerechnet werden muß, die die Form der Druckkurve selbst beim Vordringen in die peripher sten Verzweigungen verändern. Es ist dabei in erster Linie mit einer starken Dämpfung der kürzesten in der Arterien-

pulskurve vorkommenden Schwingungen zu rechnen. Es ist ferner zu erwarten, daß Änderungen des elastischen Widerstandes und des Strömungswiderstandes der peripherstен Arterien die Form der Druckkurve beeinflussen. Es ist zur Zeit noch nicht möglich, die verschiedenen in Frage kommenden Einflüsse voneinander abzugrenzen. Daher ist es auch noch nicht möglich zu entscheiden, ob so langsame Pulswellengeschwindigkeiten, wie sie nach Greven und Federschmidt (11) nötig sind, um manche Volumenpulskurven aus der fälschenden Wirkung des Integrals allein zu erklären, tatsächlich vorkommen. Vielleicht kann die Registrierung der Pulse kleinster, sehr weit peripherer gelegener Arterienäste mit geeigneten Methoden weiterhelfen. Eigene Versuche in dieser Richtung sind im Gange.

Neben Adrenalin wurden eine Reihe anderer blutdrucksteigernder Substanzen untersucht, so das Pervitin, Suprifen, Ephedrin, Sympatol, Veritol, Tonephin. Injektion von 30 mg Sympatol i. v. in etwa 20 Sekunden hat im ganzen eine adrenalinartige Wirkung. An der Hand sehen wir stets eine Abnahme der Hauttemperatur, Abnahme des Blutgehaltes der Finger und häufig starke Abnahme der Sauerstoffsättigung des Fingerblutes. Die Dauer und das Ausmaß der Reaktion unterscheidet sich nicht merklich von der Wirkung von 20 γ Adrenalin. Am Ohr findet sich ebenfalls eine Abnahme der Hauttemperatur und des Blutgehaltes, aber wie bei Adrenalin keine Änderung der Sauerstoffsättigung. Die Wirkung auf arteriellen Puls und peripheren Volumenpuls war in allen Versuchen weniger ausgeprägt als bei Adrenalin, insbesondere war die Amplitude der Fingerkuppenpulse nur wenig verkleinert. Im Arterienpuls wurde der Zwischenschlag weniger deutlich. Der periphere Puls zeigte die entsprechende Formveränderung. Die PWG. war sowohl auf der Strecke C.–R. wie R.–F. um ein geringes (etwa 10%) beschleunigt. Sehr deutlich waren in den ersten 30—40 Sekunden nach Sympatolinjektion häufig die respiratorischen Schwankungen, die sowohl im Arterienpuls als auch in den peripheren Pulskurven auftraten. Es handelt sich um respiratorische Blutdruckwellen, die in Arterienpuls und Fingerpuls in meist völlig paralleler Weise zum Ausdruck kommen. Das Druck- bzw. Füllungsminimum liegt meist kurz vor oder nach dem Moment der größten Exspirationsgeschwindigkeit. Das Druckmaximum liegt kurz vor Beginn der nächsten Inspiration. Diese Druckwellen sind meist nicht von respiratorischer Arrhythmie des Herzens begleitet.

Abb. 3 zeigt die Wirkung einer intravenösen Injektion von 0,5 ccm Pervitin. Man vergleiche Abb. 3 mit Abb. 2 der analogen Adrenalinkurve. Man sieht die viel längere Dauer der Wirkung, die besonders im Verlauf der Temperaturkurve deutlich wird. Die Abnahme des Blutgehaltes des Fingers ist sehr viel geringer als beim Adrenalin, auch die Abnahme der Sauerstoffsättigung des Blutes ist geringer als beim Adrenalin. Sie entspricht aber dem Verlauf der Temperaturkurve. Bei abnehmender Hauttemperatur, also verminderter Hautdurchblutung, nimmt die Ausnutzung des Blutsauerstoffs zu. Später, bei ansteigender Temperatur, nimmt sie wieder ab. Auch Pervitin hat wie Adrenalin eine zweite Wirkungsphase, die in der Kurve nicht mehr zur Darstellung kommt, in der die Haut-

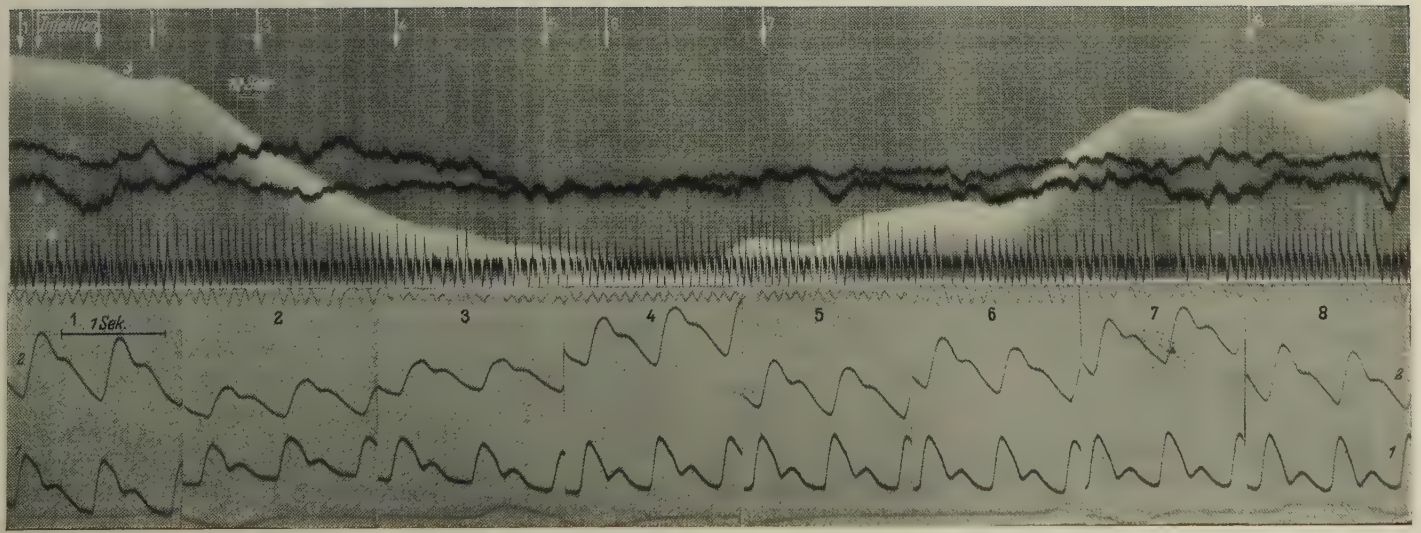


Abb. 3. Injektion von 7,5 mg Pervitin i. v. Obere Kurve: Handdurchleuchtung, 1. Rotlichtkurve, 2. Ultrarotlichtkurve, 3. Hauttemperatur, 4. Atmung. Die untere Kurve stellt den Cubitalispuls (1), den Fingerpuls (2) der Versuchsperson dar, die gleichzeitig mit der oberen Kurve aufgenommen wurden. Die einzelnen Abschnitte der Pulskurve (1—8) entsprechen den durch die Pfeile markierten Zeitmomenten der oberen Kurve.

temperatur der Blutgehalt der Haut und die Sauerstoffsättigung des Blutes vermehrt sind. Diese Phase begann in dem wiedergegebenen Beispiel 2 Minuten nach Ende der Kurve, sie hält stets mehrere Minuten an. Auch die Wirkung des Pervitins auf Cubitalispuls und Fingerpuls ist sehr viel geringer als die Adrenalinwirkung. Wir sehen nur anfangs eine geringe Verkleinerung der Amplitude des Fingerkuppenpulses relativ zum Cubitalispuls und wir sehen ebenfalls eine langsam auftretende Dikrotie der Cubitalispulse. Die PWG. zeigt nur sehr geringe Veränderungen. So zeigt sich uns die Wirkung des Pervitins als eine protrahierte, dafür aber schwächere adrenalinähnliche Wirkung.

Veritol bewirkt in Dosen von 10 mg i. v. injiziert am Ohr einen langsamen Anstieg der Hauttemperatur sowie eine Abnahme des Blutgehaltes des Ohres (Abb. 4). Die Sauerstoffsättigung des Blutes ändert sich dabei nicht. Temperatursteigerung und Abnahme des Blutgehaltes zeigen etwa 2–3 Minuten nach dem Ende der Injektion ihr Maximum, um dann langsam wieder abzufallen. Die gleichzeitige Registrierung an der Hand zeigt unmittelbar nach Injektion des Veritols einen deutlichen Abfall der Hauttemperatur, der nach etwa $1-1^1/_2$ Minuten sein Maximum erreicht, um dann einer starken Zunahme der Hauttemperatur oft weit über das Ausgangsniveau hinaus Platz zu machen. Die Sauerstoffsättigung des Fingerblutes ist während des initialen Abfalles der Hauttemperatur stets vermindert. Später, bei ansteigender Hauttemperatur, wird sie wieder normal oder sie zeigt sogar einen Anstieg über das Ausgangsniveau hinaus. Der Blutgehalt am Finger ändert sich wenig. Er zeigt meist eine geringe Abnahme. Finger und Ohr zeigen also durchaus verschiedene Reaktionen, besonders zeigt die Hauttemperatur ein geradezu gegensätzliches Verhalten. Die Volumenpulse der Fingerkuppe zeigen im Gegensatz zur Adrenalinwirkung keine Verkleinerung ihrer Amplitude, im Gegenteil die nach Veritol häufig eintretende Bradykardie bewirkt eine Zunahme der Amplitude der peripheren Volumenpulse ebenso wie der Arterienpulse. Das Größenverhältnis des peripheren Pulses zum Cubitalispuls ändert sich dabei nicht.

Bei einer kleinen Veritoldosis (4 mg), die auch am Finger die Hauttemperatur ansteigen ließ, sahen wir eine deutliche Vergrößerung der Fingerpulsamplitude bei gleichbleibender Cubitalispulsamplitude. Andererseits sahen wir bei einer stärkeren Veritoldosis (10 mg) einmal ein initiales Kleinerwerden der Fingerpulse bei abfallender Hauttemperatur und unverändertem Cubitalispuls.

Auch die Form der Arterienpulse unterscheidet sich deutlich von der Adrenalinwirkung. Es tritt kein „Resonanzpuls" auf, sondern das Gegenteil. Der Zwischenschlag wird in der Cubitalis- und Radialispulskurve immer deutlicher. Er wird häufig zum Hauptmaximum der Kurve. Dies hat seine Ursache in der Verlängerung der Systolendauer nach Veritol, die die Veritolbradykardie begleitet, sowie einer deutlichen Verkürzung

der Eigenschwingung des Cubitalisrohres, die möglicherweise in der Erhöhung des Blutdruckes und zum Teil dadurch bedingten Erhöhung der PWG. ihre Ursache hat. Der periphere Fingerpuls nach Veritol weicht in seiner Form sehr stark vom Cubitalispuls ab. Das Hauptmaximum des

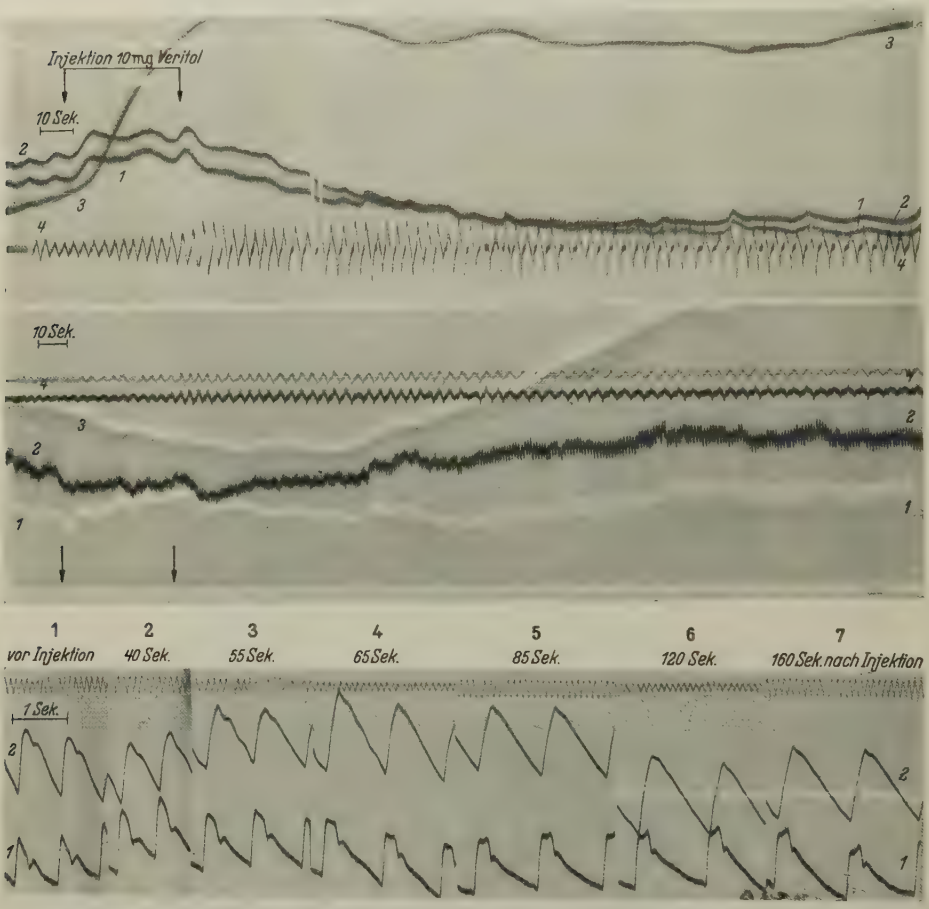


Abb. 4. Injektion von 0,5 ccm 10 mg) Veritol i. v. Obere Kurve: Ohrdurchleuchtung. Mittlere Kurve: Durchleuchtung der Finger. 1. Rotlichtkurve, 2. Ultrarotlichtkurve, 3. Hauttemperatur, 4. Atmung. Die unterste Kurve stellt das Verhalten des Cubitalispulses (1) und des Fingerpulses (2) nach Veritol dar. Diese Kurve wurde nicht gleichzeitig mit der oberen und mittleren Kurve registriert, sondern stammt aus einem analogen Versuch an der gleichen Versuchsperson.

Cubitalispulses wird zu einem eben deutlichen Wendepunkt im aufsteigendem Kurvenast; der Zwischenschlag entspricht dem Maximum des Fingerpulses. Der absteigende Kurvenast des peripheren Pulses erscheint gegenüber dem Cubitalispuls stark überhöht. Die Verkürzung der Eigenschwingung des Cubitalispulses zeigt sich im peripheren Puls deutlich in der Verkürzung der unmittelbar dem Einschnitt nach dem Kurvengipfel

(Incisur) folgenden Schwingung, die ebenso wie die zu gleicher Zeit im Cubitalispuls auftretende Schwingung der Eigenschwingung des Cubitalis-Bradialisrohres entspricht. Auch die spitze Form des Gipfels der peripheren Pulskurve wird durch die Verkürzung der Eigenschwingung des Cubitalispulses bedingt. Die Form des Fingerpulses nach Veritol nähert sich der des Ohrpulses (5), ebenso wie der Cubitalispuls dem Carotispuls ähnlich wird. Die PWG. war nach Veritol immer erhöht, und zwar dauerte die Steigerung der PWG. wie die des Blutdruckes viele Minuten lang. Die Erhöhung der PWG. war auf der zentralen Arterienstrecke (Ekg.–Cubitalis) größer (20—30%) als auf der peripheren Strecke [Cubitalis-Finger (10—20%)].

Während zur Erklärung der Pulsform nach Adrenalin (Verlängerung der Eigenschwingung des Cubitalisrohres) eine Änderung der Reflexionsbedingungen oder der Lage der Reflexionsstellen in der Peripherie notwendig ist, ist eine solche Annahme beim Veritol nicht notwendig, ebenso ist die starke Vasokonstriktion der periphersten arteriellen Verzweigungen, die sich nach Adrenalin in der starken Abnahme der Amplitude der Fingerpulse zeigte, beim Veritol nicht nachweisbar.

Veritol führt also mindestens am Ohr zu einer die Blutdrucksteigerung begleitenden Mehrdurchblutung der Haut. Diese Mehrdurchblutung ist eine druckpassive und findet möglicherweise trotz Vermehrung des peripheren Widerstandes statt. Trotz Mehrdurchblutung kommt es zu einer Abnahme des Blutgehaltes des Ohres, wahrscheinlich infolge besserer Entleerung der Hautvenen und Kapillaren (an den die arterielle Seite der Zirkulation darstellenden Volumenpulsen ändert sich nichts). Diese „Entleerung des Blutdepots der Haut" ist aber nach Veritol zwar länger anhaltend, aber längst nicht so ausgeprägt wie nach Adrenalin. Am Finger scheint die Vermehrung des peripheren Widerstandes nach Veritol ausgeprägter zu sein als am Ohr, denn es kommt hier zu einem starken initialen Abfall der Hauttemperatur. Die Verminderung der Hautdurchblutung zeigt sich am Finger auch in einem Abfall der Sauerstoffsättigung des Fingerblutes. Spritzt man geringere Dosen Veritol (0,1—0,2 ccm), so fehlt am Finger die initiale Durchblutungsverminderung. Wir finden wie am Ohr nur einen Anstieg der Hauttemperatur und eine Abnahme des Blutgehaltes. Auch am Finger ist die „Arteriolenkonstriktion" nach Veritol längst nicht so ausgeprägt wie nach Adrenalin. Es fehlt die starke Verminderung der Amplitude der arteriellen peripheren Volumenpulse.

Natürlich soll die Abnahme der Amplitude der peripheren Volumenpulse bei steigendem Blutdruck, wie wir sie nach Adrenalin finden, nicht einfach im Sinne einer Verengung der peripheren arteriellen Verzweigungen und damit einer Vermehrung des peripheren Strömungswiderstandes gedeutet werden. Der elastische Widerstand dieser kleinsten Gefäße kann sich unabhängig von ihrer Weite, die den Strömungswiderstand bedingt, ändern. So könnte es sein, daß beim Veritol an den Händen bei vergrößertem peripheren Strömungswiderstand der elastische Widerstand in den kleinsten Gefäßen relativ gering ist (große periphere Volumenpulse,

deren Form sehr stark von der der entsprechenden Arterienpulse abweicht), während beim Adrenalin peripherer Strömungswiderstand und elastischer Widerstand groß sind (kleine, in der Form mit dem zugehörigen Arterienpuls weitgehend übereinstimmende periphere Pulse). Vorläufig lassen sich aber über das Verhalten der Elastizität der peripherstenArterien noch keine exakt begründbare Angaben machen.

Tonephin bewirkt in kleinen Dosen (0,1 ccm) an der Hand eine reine Temperaturzunahme ohne wesentliche Veränderung des Blutgehaltes und der Sauerstoffsättigung. Größere Dosen (0,2—0,3 ccm) bewirken an den Fingern zunächst einen Abfall der Hauttemperatur mit Abnahme des Blutgehaltes und Abnahme der Sauerstoffsättigung. Dieser Effekt, der nach $1-1^1/_2$ Minuten seinen Höhepunkt erreicht, macht dann einem raschen Anstieg der Hauttemperatur meist erheblich über das Ausgangsniveau mit Rückkehr des Blutgehaltes und der Sauerstoffsättigung zur Ausgangslage Platz. Die Fingerkuppenpulse sind im Stadium der abfallenden Hauttemperatur in ihrer Amplitude gegenüber dem gleichbleibenden Cubitalispuls verringert, im Stadium der ansteigenden Hauttemperatur hat ihre Amplitude auch gegenüber dem Ausgangswert deutlich zugenommen. Die Pulsform war in den von uns registrierten Kurven kaum verändert. Am Ohr wurde die Tonephinwirkung noch nicht untersucht.

Nur wenige Versuche wurden mit Suprifen (0,01 g), Neospiran (0,5 ccm), Ephedrin (10 mg) gemacht. Alle diese Substanzen bewirken an den Fingern zunächst einen Abfall der Hauttemperatur mit geringer Abnahme des Blutgehaltes und meist auch Abfall der Sauerstoffsättigung. Diese Veränderungen machen bald einem Anstieg der Hauttemperatur mit Rückkehr von Blutgehalt und Sauerstoffsättigung zur Norm Platz.

Von blutdrucksenkenden Substanzen wurden Histamin und Doryl näher untersucht. Doryl (Carbaminoylcholin) bewirkt am Ohr in Dosen von 20 γ i. v. eine rasch einsetzende und rasch abklingende Zunahme der Hauttemperatur mit Zunahme des Blutgehaltes ohne Änderung der Sauerstoffsättigung des Blutes (Abb. 5). Also Vasodilatation mit Mehrdurchblutung der Haut trotz Blutdruckabfall. An den Fingern sehen wir einen diphasischen Effekt. Zunächst Abnahme der Hauttemperatur und geringe Abnahme des Blutgehaltes. Es fällt dann auch die Sauerstoffsättigung ab. Der Blutgehalt der Haut nimmt aber bald zu. Die Sauerstoffsättigung steigt wieder an und bald darauf steigt auch die Hauttemperatur meist beträchtlich über ihren Ausgangswert an. Ein derartiger diphasischer Effekt wurde an den Händen bei Doryl und ebenso beim Histamin stets beobachtet. Wir sahen ihn auch häufig bei anderen blutdrucksenkenden Substanzen, wie bei Padutin, Eupaverin usw. Bei allen diesen Substanzen wurde am Ohr stets ein einphasischer Effekt, Mehrdurchblutung mit Temperaturanstieg ohne Änderung der Sauerstoffsättigung, beobachtet. Der initiale Abfall der Hauttemperatur mit Abnahme des Blutgehaltes und

der Sauerstoffsättigung des Blutes bei Injektion eines blutdrucksenkenden, gefäßerweiternden Mittels muß als druckpassiv erklärt werden. Bei allgemeiner peripherer Vasodilatation kann nicht überall sofort eine Mehrdurchblutung mit Zunahme des Blutgehaltes der peripheren Organe einsetzen. Die dem Körper zur Verfügung stehende Blutmenge reicht dazu nicht aus. Gewisse Kreislaufgebiete sind bevorzugt, so der Kreislauf des Kopfes. Es kommt hier trotz Blutdruckabfall zur Mehrdurchblutung und Zunahme des Blutgehaltes. Da die Durchblutung für die Stoffwechselbedürfnisse des Gewebes ausreicht, kommt es nicht zu einer Sauerstoffverarmung des Blutes. Andere weniger wichtigen Gefäßprovinzen erhalten

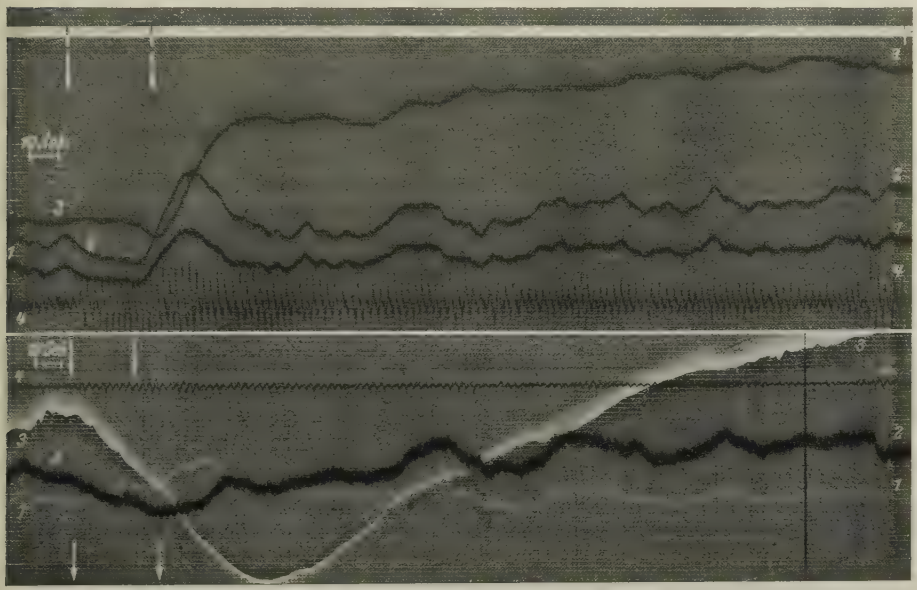


Abb. 5. Injektion von 20 γ Doryl i. v. zwischen den Marken. Obere Kurve: Ohrdurchleuchtung. Untere Kurve: Durchleuchtung der Finger. 1. Rotlichtkurve, 2. Ultrarotlichtkurve, 3. Hauttemperatur, 4. Atmung.

während des initialen Blutdruckabfalls nach Doryl oder Histamin weniger Blut. Es kommt zur initialen Minderdurchblutung (Temperaturabnahme) und Abnahme des Blutgehaltes. Da die Durchblutung für die Stoffwechselbedürfnisse des Gewebes nicht mehr ganz ausreicht, fällt die Sauerstoffsättigung des Blutes ab. Schon nach etwa 1 Minute ist meist die Störung wieder ausreguliert. Der Blutgehalt steigt jetzt auch am Finger. Die Sauerstoffsättigung des Blutes und die Durchblutung bessern sich. Wir kennen die allgemeine Minderdurchblutung der Peripherie als Folge erheblicher Überdosierung von Histamin, Doryl und ähnlichen Substanzen. Es kommt zu einem durch die Injektion bedingten Kollapszustand. Bei der Injektion kleiner Dosen von Histamin oder Doryl sehen wir, daß un-

mittelbar nach der Injektion eine dem Kollaps ähnliche Kreislauflage in den minder wichtigen Kreislaufgebieten (Finger, Zehen) besteht, während am Kopf noch Durchblutungssteigerung und Zunahme des Blutgehaltes das Wirkungsbild beherrscht. Die besondere Bevorzugung des Kopfes bei der Verteilung des Blutes unter dem Einfluß mancher blutdrucksenkenden Mittel ist der Versuchsperson auch subjektiv spürbar. Man kennt das Gefühl des heißen Kopfes, welches nach Amylnitritatmung, Histamininjektion usw. auftritt. Eine Bevorzugung des Kreislaufgebietes des Kopfes gegenüber dem der Extremitäten sahen wir wie oben beschrieben auch bei der Wirkung vasopressorischer Pharmaca. Bei diesen Mitteln kam es an den Fingern zu einer stärkeren Arteriolenkonstriktion als am Ohr, infolgedessen war z. B. nach Veritol die Durchblutung des Ohres mit steigendem Blutdruck vermehrt, die des Fingers vermindert. Auch bei der Adrenalinwirkung wies das Fehlen des Abfalles der Sauerstoffsättigung am Ohr sowie Beobachtungen bei der Bestimmung der Blutgeschwindigkeit darauf hin, daß die Durchblutung des Ohres nicht so stark gedrosselt wurde wie die der Finger. Danach ist das Ohr bzw. der Kopf sowohl bei vasopressorischen wie bei vasodilatorischen Kreislaufreaktionen besser mit Blut versorgt als der Finger.

Änderungen der Sauerstoffsättigung des Blutes wurden sowohl bei vasopressorischen als auch bei vasodilatorischen Kreislaufreaktionen nur dann beobachtet, wenn das Verhalten der Hauttemperatur auf eine Veränderung der Durchblutung hinwies. Sie erfolgten stets in dem Sinne, der durch die Durchblutungsänderung gegeben ist, also Abnahme der Sauerstoffsättigung bei Durchblutungsverminderung, Zunahme der Sauerstoffsättigung bei Mehrdurchblutung der Haut. Es besteht also kein sicherer Anhalt für eine spezifische Stoffwechselwirkung der untersuchten Substanzen etwa derart, wie sie von Klein und Spiegel (15) und anderen für Histamin, allerdings bei intraarterieller Injektion, beschrieben wurden. Es kann sein, daß das eine Frage der Dosierung ist. Bei intraarteriellen Injektionen wirken die injizierten Substanzen in viel höherer Konzentration auf das Gewebe ein. Der Befund, daß Adrenalin am Ohr zu einer starken Durchblutungsminderung, aber nicht zu einer Änderung der Sauerstoffsättigung führt, könnte im Sinne von Rein (8) so gedeutet werden, daß gleichzeitig mit der Drosselung der Durchblutung der Stoffwechsel gehemmt wird. An den Fingern tritt, bei der wahrscheinlich stärkeren Drosselung der Durchblutung, eine entsprechende Hemmung des Sauerstoffverbrauchs nicht ein, denn die Sauerstoffsättigung des Fingerblutes ist nach Adrenalin stets erheblich vermindert.

Stoffe, die die Durchblutung bzw. Hauttemperatur nicht ändern, hatten nie einen nachweisbaren Einfluß auf die Sauerstoffsättigung des Blutes. Bei intravenöser Injektion von Strophantin wurde so niemals eine Änderung der Sauerstoffsättigung des Blutes gesehen. Die Befunde von Klein und Gotsch (16), die eine Stoffwechselwirkung des Strophantins

fanden, wurden bei intraarteriellen Injektionen erhoben. Unsere Befunde können auch nur über Hautdurchblutung und Hautstoffwechsel etwas aussagen, nichts dagegen über das Verhalten der Muskulatur.

Einen prinzipiellen Unterschied in der Wirkung von Histamin und Doryl i. v. konnten wir in unseren Versuchen nicht nachweisen, sowohl am Ohr wie am Finger und Zehen war die Reaktion von Hauttemperatur, Hautdurchblutung und Sauerstoffsättigung bei beiden Substanzen die gleiche, wenn man davon absieht, daß die Histaminwirkung meist etwas länger dauert. Aus diesem Grunde haben wir auf eine Reproduktion einer Histaminkurve verzichtet. Ein prinzipiell verschiedener Wirkungsmechanismus beider Substanzen ist also mit unseren Methoden am Menschen nicht nachzuweisen.

Eine Wirkung von Histamin auf die Sauerstoffsättigung des arteriellen Blutes konnte ebenfalls in unseren Versuchen, die an drei Versuchspersonen ausgeführt wurden, nicht nachgewiesen werden. Eine Histaminwirkung im Sinne einer „Pneumonose" [Klein und Nonnenbruch (7)] wurde also vermißt. Ebensowenig fand sich bei irgendeiner anderen Substanz eine Änderung der Sauerstoffsättigung des arteriellen Blutes. Wir haben unsere ersten Versuche mit Adrenalin während der Atmung von reinem Sauerstoff gemacht, um jede Einwirkung einer Änderung der Sauerstoffsättigung des arteriellen Blutes auszuschließen. Unsere Ergebnisse waren die gleichen wie bei Luftatmung, insbesondere wurde die für Adrenalin charakteristische Verminderung der Sauerstoffsättigung des Fingerblutes infolge vermehrter Ausnutzung des Blutsauerstoffs auch bei Sauerstoffatmung gefunden.

Die Wirkung des Amylnitrits ist zum Teil schon in früheren Arbeiten (2, 19) beschrieben worden. Bei Inhalation erheblicher Mengen fand sich mitunter nachweisbare Methämoglobinbildung. Im übrigen fand sich an den Fingern stets eine Abnahme der Hauttemperatur, die oft von einer Zunahme des Blutgehaltes begleitet war. In vielen Kurven fand sich jedoch eine initiale Abnahme des Blutgehaltes der Finger, häufig mit einem deutlichen Abfall der Sauerstoffsättigung des Fingerblutes bei ebenfalls absinkender Hauttemperatur. Wir haben jetzt öfters die Vorgänge an Ohr und Hand gleichzeitig registriert. Am Ohr fand sich immer im Beginn der Wirkung eine Zunahme der Hauttemperatur und des Blutgehaltes ohne Änderung der Blutfarbe, auch wenn am Finger eine reine Temperaturabnahme und Abnahme des Blutgehaltes und der Sauerstoffsättigung gesehen wurde. Meist zeigte dann im späteren Verlauf der Amylnitritwirkung auch die Ohrkurve eine Abnahme der Temperatur und des Blutgehaltes. Also wieder an Ohr und Finger völlig gegensätzliche Wirkungen, denen auch die subjektive Wirkung des „heißen Kopfes" nach Amylnitrit entspricht. Die Erklärung ist die gleiche wie bei Histamin und Doryl: Das Blut strömt bei allgemeiner Vasodilatation zunächst am stärksten in das bevorzugte Gebiet des Kopfes. In den

Extremitäten kommt es zu Temperaturabnahme, Abnahme des Blutgehaltes und der Sauerstoffsättigung. Wenn die geatmete Amylnitrit-

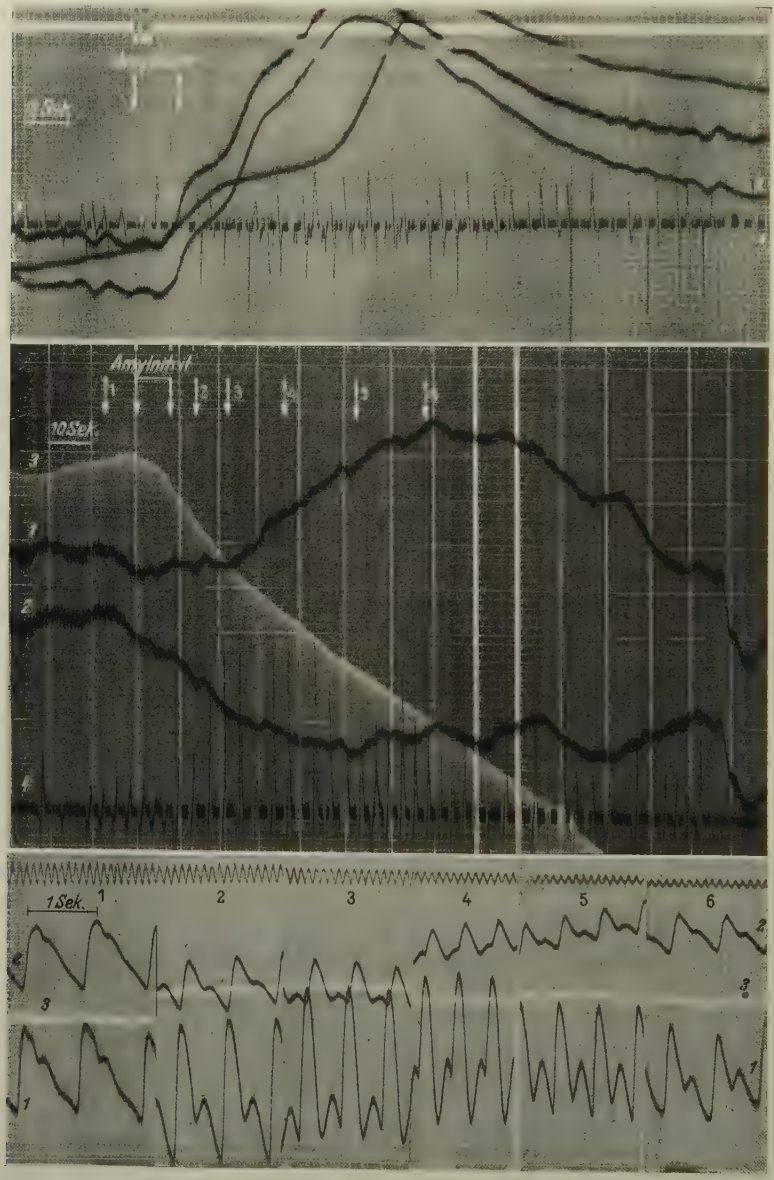


Abb. 6. Inhalation von Amylnitrit zwischen den Marken. Obere Kurve: Ohrdurchleuchtung. Mittlere Kurve: Durchleuchtung der Finger. 1. Rotlichtkurve, 2. Ultrarotlichtkurve, 3. Hauttemperatur, 4. Atmung. Die unterste Kurve stellt die gleichzeitig mit der mittleren Kurve registrierten Pulse dar. 1. Cubitalispuls, 2. Fingerpuls, 3. Ekg. Die einzelnen Abschnitte der Pulskurve (1—6) entsprechen den auf der mittleren Kurve durch Pfeile angegebenen Zeitmomenten. Die obere Kurve wurde nicht gleichzeitig mit der mittleren aufgenommen, sondern stammt aus einem analogen Versuch an der gleichen Versuchsperson.

menge groß war, so kommt es sekundär auch am Kopf zu Temperaturabfall und Abnahme des Blutgehaltes, während in den Extremitäten der Blutgehalt und die Sauerstoffsättigung des Blutes schon langsam wieder zunehmen.

Abb. 6 zeigt eine derartige Reaktion auf Amylnitritatmung. Wir sehen in der mittleren Kurve Temperaturabfall, Abnahme des Blutgehaltes und der Sauerstoffsättigung am Finger nach Amylnitrit. Die untere Kurve zeigt die zu der mittleren Kurve gehörenden Fingerpulse und Cubitalispulse. Die obere Kurve wurde von einem anderen Versuch an der gleichen Versuchsperson hinzugefügt. Sie zeigt die anfängliche Zunahme der Hauttemperatur und des Blutgehaltes der Haut am Ohr. Die gleichzeitig mit der oberen Kurve aufgezeichnete Handkurve entspricht der als mittlere Kurve reproduzierten in allen Einzelheiten. Auf der unteren Kurve sehen wir das bekannte Auftreten dikroter Resonanzpulse nach Amylnitritatmung. Ihr Zustandekommen ist von Frank (9) und Wezler (10) eingehend diskutiert worden und braucht hier nicht näher besprochen zu werden. Auffallend ist in der abgebildeten Pulsreihe, daß der Fingerpuls in seiner Form dem Cubitalispuls stets genau entspricht. Während die Amplitude des Fingerpulses nach Amylnitrit sich sehr stark verringert, ist die Amplitude der Cubitalispulse im Stadium der Resonanzpulse deutlich vermehrt. Die Amplitude des peripheren und zentraleren Pulses ändern sich also in entgegengesetztem Sinne. Die Verkleinerung der Amplitude des peripheren Volumenpulses erscheint verständlich, da bei zunehmender Pulsfrequenz die Gesamtdurchströmung der Haut abnimmt. Bei der Beurteilung der Pulsamplitude der Cubitalis ist zu berücksichtigen, daß dieses Gefäß neben der Haut noch andere Kreislaufgebiete (Muskeln) versorgt, über deren Durchblutungsänderungen nach Amylnitrit nichts bekannt ist. Es ist daher noch nicht möglich, aus dem Verhalten der Pulsamplituden und der PWG. bestimmte Schlüsse auf Änderungen der Gefäßelastizität zu ziehen. Die Pulswellengeschwindigkeit war nach Amylnitrit auf der Arterienstrecke Cubitalis–Radialis stets vermindert. Auf der peripheren Strecke fanden wir eine gleichbleibende PWG. oder eine geringe Verminderung derselben.

Die Pulse nach intravenöser Histamininjektion sind denen nach Amylnitritatmung sehr ähnlich. Es kommt ebenfalls zum Auftreten von Resonanzpulsen, deren Form in Cubitalispuls und im Fingerpuls weitgehend übereinstimmt. Wie bei Amylnitrit findet sich eine Abnahme der Pulsamplitude der Fingerpulse bei Zunahme der Amplitude der Arterienpulse. Nach Dorylinjektion sind die Änderungen im Puls viel weniger ausgeprägt. Die Pulsamplituden blieben in beiden Pulsen fast unverändert. Der Zwischenschlag wurde sowohl im Cubitalispuls als auch im peripheren Puls weniger deutlich, ohne daß es zum Auftreten ausgesprochen dikroter Pulse kam.

Allgemein kann gesagt werden, daß die Schwankungen der Amplitude der herzsynchronen Volumenpulse deutlich erkennbare Beziehungen zur

Durchblutungsgröße der Haut (Hauttemperatur) und zur Pulsfrequenz haben. Jedoch scheinen diese Beziehungen nicht einfach quantitative zu sein. So ist z. B. die Verminderung der Amplitude der peripheren Pulse nach Adrenalin größer, als sie bei gleichem Verhalten der Hauttemperatur und Berücksichtigung der Pulsfrequenz nach Veritol oder Pervitin ist. Entsprechende Unterschiede finden sich auch bei den blutdrucksenkenden Substanzen, z. B. zwischen Doryl und Amylnitrit. Ob dieses Verhalten auf Unterschiede des elastischen Verhaltens der peripheren Arterien zurückzuführen ist, oder ob andere Faktoren, wie z. B. Verschiebungen des Verhältnisses zwischen Blutdruck in zentralen und peripheren Arterien dabei eine Rolle spielen, läßt sich zur Zeit noch nicht entscheiden. Einfache Beziehungen zwischen den Schwankungen der Amplitude der Volumenpulse und den Änderungen der Gesamtlichtdurchlässigkeit der Haut scheinen ebenfalls nicht zu bestehen.

Die Änderungen des Blutgehaltes der Haut erfolgen unabhängig von den Änderungen der Durchblutung und des Arteriendruckes, so beobachteten wir bei steigendem Blutdruck einen Abfall des Blutgehaltes sowohl bei Zunahme (Veritol) als bei Abnahme der Hauttemperatur (Adrenalin).

Bei fallendem Blutdruck wurde eine Abnahme des Blutgehaltes allerdings nur bei fallender Hauttemperatur beobachtet (Amylnitrit, Finger). Eine Zunahme des Blutgehaltes bei steigendem Blutdruck finden wir bei zunehmender Hauttemperatur (selten nach CO_2-Atmung) und bei abnehmender Hauttemperatur (initiale Wirkung von Adrenalin am Finger). Eine Zunahme des Blutgehaltes kann sich bei fallendem Blutdruck und ansteigender Hauttemperatur (Doryl, Histamin, Ohr), sowie bei abfallender Hauttemperatur (Amylnitrit, Finger) finden. Am häufigsten fanden wir die Abnahme des Blutgehaltes der Haut kombiniert mit Blutdruckanstieg und Abfall der Hauttemperatur, während die Zunahme des Blutgehaltes meist mit Blutdruckabfall und Temperaturanstieg einhergeht. Diese häufigsten Kombinationen entsprechen der Grundwirkung der vasopressorischen und vasodilatorischen Stoffe. Die Schwankungen des Blutgehaltes der Haut sind ferner auch unabhängig von dem gleichzeitig zu beobachtenden Wechsel der Amplitude der herzsynchronen Volumenpulse. Alles dies spricht dafür, daß die Schwankungen des Blutgehaltes der Haut, die ja im wesentlichen von der Weite und Blutfüllung der Hautkapillaren und Hautvenen abhängen, eine gewisse Unabhängigkeit von den Faktoren haben, die den arteriellen Zustrom bestimmen.

Zusammenfassung.

Es wurde die Wirkung der intravenösen Injektion einiger kreislaufwirksamer Pharmaca beim Menschen untersucht. Dabei wurde gleichzeitig am Ohr und am Finger oder am Ohr und an den Zehen, die Änderungen der Durchblutung des Blutgehalts und der Sauerstoffausnutzung aufgezeichnet. Blutgehalt und Sauerstoffausnutzung wurden durch Auf-

zeichnung der Lichtabsorption des untersuchten Organs mit Photozelle verschiedener spektraler Empfindlichkeit erfaßt. Die Schwankungen der Durchblutung wurden durch Aufzeichnung der Hauttemperatur ermittelt. Gleichzeitig mit diesen Aufzeichnungen wurden Volumenpulse der Fingerspitze photoelektrisch registriert und mit den Radialis- oder Cubitalispulsen verglichen. In einigen Versuchen wurden die Geschwindigkeiten des Blutes nach den von Matthes und Mitarbeiter beschriebenen Methoden ermittelt.

1. Nach Adrenalin kommt es am Ohr zu einer Abnahme der Durchblutung und des Blutgehaltes ohne Änderung der Sauerstoffausnutzung. An Fingern und Zehen ist neben der Abnahme des Blutgehaltes und der Durchblutung eine sehr erhebliche Vermehrung der Ausnutzung des Blutfarbstoffes nachweisbar.

2. Veritol bewirkt am Ohr eine Zunahme der Hautdurchblutung bei Abnahme des Blutgehaltes und gleichbleibender Sauerstoffsättigung. An den Fingern findet sich eine initiale Verminderung der Durchblutung mit Abnahme des Blutgehaltes und der Sauerstoffsättigung, später ein Anstieg von Durchblutung, Blutgehalt und O_2-Sättigung.

3. Histamin und Doryl bewirken am Ohr Mehrdurchblutung und Zunahme des Blutgehaltes ohne Änderung der Blutfarbe. An den Fingern sahen wir einen diphasischen Effekt, zunächst Durchblutungsabnahme mit Abnahme des Blutgehaltes und Vermehrung der O_2-Ausnutzung, später Zunahme von Blutgehalt und Hautdurchblutung bei steigendem Sauerstoffgehalt des Blutes.

4. Neben diesen Substanzen wurde die Wirkung von Sympatol, Pervitin, Tonephin, Amylnitrit und verschiedener anderer Substanzen eingehend beschrieben.

5. Im ganzen scheint das Kreislaufgebiet des Kopfes (Ohr) sowohl bei vasopressorischen als auch bei vasodilatorischen Reaktionen begünstigt, gegenüber dem der Extremitäten. Es erhält bei allen Reaktionen relativ mehr Blut. Entsprechend kommt es nicht zu einer Vermehrung der Ausnutzung des Sauerstoffs, die an den Extremitäten stets bei erheblicher Durchblutungsverminderung eintritt.

6. Die Änderungen des Blutgehaltes der Haut erfolgen unabhängig von den Schwankungen der Hautdurchblutung und des Blutdrucks. Der Blutgehalt der Haut hängt im wesentlichen ab von der Füllung der Kapillaren und Venen. Diese besitzen eine gewisse Unabhängigkeit von den Faktoren, die den arteriellen Zustrom bestimmen.

7. Die Ausnutzung des Blutsauerstoffs ändert sich meist entsprechend den Schwankungen der Hautdurchblutung. Verminderte Hautdurchblutung führt zu einem Absinken, vermehrte Hautdurchblutung aber zu einem Anstieg der Sauerstoffsättigung des in der Haut zirkulierenden

Blutes. Ein Konstantbleiben der Sauerstoffsättigung trotz erheblicher Verminderung der Hautdurchblutung wurde besonders am Ohr beobachtet.

8. Substanzen, die die Hautdurchblutung unverändert lassen, wie z. B. Strophantin, bewirken auch keine Änderungen der Ausnutzung des Blutsauerstoffs in der Haut.

9. Änderungen der Sauerstoffsättigung des arteriellen Blutes konnten nach Injektion von irgendwelchen Stoffen nicht beobachtet werden, z. B. keine „Pneumonose" nach Histamin.

10. Periphere Volumenpulse der Fingerkuppe werden mit Radialis- und Cubitalispulsen verglichen. Es werden die Änderungen der Pulsform und der Pulswellengeschwindigkeit bei pharmakologischen Reaktionen beschrieben.

11. Es wird gezeigt, daß bei den verschiedenen pharmakologischen Reaktionen die Amplituden des peripheren Pulses und des zugehörigen Arterienpulses sich in charakteristischer Weise und oft in entgegengesetztem Sinne ändern.

Literatur.

1) Matthes u. Gross: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 523 (1939). — 2) Gross, Matthes u. Göpfert: Klin. Wschr. **1940**, I, 73. — 3) Matthes, Gross u. Göpfert: Z. exper. Med. **107**, 228 (1940). — 4) Matthes u. Hauß: Klin. Wschr. **1938**, II, 1211. — 5) Matthes, Gross u. Göpfert: Pflügers Arch. **242**, 437 (1939). — 6) Matthes u. Malikiosis: Dtsch. Arch. klin. Med. **179**, 500 (1936). — 7) Matthes u. Schleicher: Z. exper. Med. **105**, 755 (1939). — 8) Rein: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. 1937, S. 27. — 9) Frank, O.: S.ber. Ges. Morph. u. Physiol. Münch. **37**, 483 (1899). — 10) Wezler u. Greven: Z. exper. Med. **105**, 540 (1939). — 11) Greven u. Federschmidt: Pflügers Arch. **242**, 617 (1939). — 12) Frank, O.: Z. Biol. **85**, 91 (1926). — 13) Hauck: Ebenda **98**, 387 (1938). — 14) Wezler u. Böger: Ebenda **98**, 438 (1938). — 15) Klein u. Spiegel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 542 (1936). — 16) Klein u. Gotsch: Z. exper. Med. **101**, 219 (1937). — 17) Klein u. Nonnenbruch: Z. Klin. Med. **125**, 29 (1933). — 18) Matthes u. Gross: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 106 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg.
(Direktor: Prof. Dr. E. Keeser.)

Zur Kreislaufwirkung des Tetrachlorkohlenstoffs.

Von

H.-A. Oelkers und H. Fiedler.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. Februar 1940.)

Die zahlreichen Untersucher, die sich mit den Giftwirkungen des Tetrachlorkohlenstoffs beschäftigten, richteten ihr Hauptaugenmerk auf den Umstand, daß diese Verbindung in noch höherem Maße wie Chloroform ein Stoffwechselgift ist, das insbesondere in der Leber schwerste Schädigungen herbeizuführen vermag (vgl. z. B. die zusammenfassenden Darstellungen von Flury und Zernik[1] und von Lehmann und Flury[2]). Verhältnismäßig wenig beachtet wurden dagegen bisher die Wirkungen des Tetrachlorkohlenstoffs auf den Kreislauf, die nach unseren Erfahrungen bei der Inhalation der Dämpfe sehr erheblich sein können.

Bereits Laffont[3] beobachtete bei Versuchen, Tetrachlorkohlenstoff als Inhalationsanaestheticum zu benutzen, ein auffällig starkes Sinken des Blutdrucks bei verhältnismäßig geringer narkotischer Wirksamkeit. Diese Angabe, die unseres Wissens bisher nicht bestätigt worden ist, veranlaßte uns, einige Versuche über die Kreislaufwirksamkeit des Tetrachlorkohlenstoffs bei Kaninchen und Katzen vorzunehmen.

Die Tiere befanden sich bei diesen Versuchen in Urethannarkose; Blutdruck (A. carotis, Quecksilbermanometer) und Atmung (Tracheotomie, Mareysche Kapsel) wurden fortlaufend aufgezeichnet. Hierbei ergab sich, daß die Einatmung von Tetrachlorkohlenstoff von etwa 50 mg pro Liter an in der Tat eine ziemlich rasch einsetzende und bei wenig höheren Konzentrationen bereits recht erhebliche Blutdrucksenkung herbeiführt. Die Atemtätigkeit war hierbei gleichzeitig bei Kaninchen meist anfangs etwas beschleunigt und vertieft, bei Katzen dagegen fast immer sogleich verlangsamt und mitunter ebenfalls vertieft. Längere Einatmung führte auch bei Kaninchen zur Abnahme und bei höheren Konzentrationen schließlich zum Aufhören der Atembewegungen.

Die Abb. 1 gibt einen dieser Versuche an einem Kaninchen wieder, das $3^1/_2$ Minuten lang eine CCl_4-Konzentration von 100 mg pro Liter

---

[1] Flury, F., u. F. Zernik: Schädliche Gase, S. 316ff. Berlin 1931. — [2] Lehmann, K. B., u. F. Flury: Toxikologie und Hygiene der technischen Lösungsmittel, S. 112. Berlin 1938. — [3] Laffont, G.: Thèse de Paris 1877, zit. nach C. H. Morel: Compt. rend. de l'Acad. d. Sci. **84**, 1466 (1877).

einatmete. Die Abb. 2 zeigt den entsprechenden Versuch bei einer Katze (Dauer der CCl_4-Inhalation 5 Minuten). In beiden Fällen sank der Blutdruck rasch um 50 mm Quecksilber ab, um dann bei der Katze bereits während der Inhalation, bei dem Kaninchen unmittelbar danach langsam wieder anzusteigen. Die Atemtätigkeit zeigte besonders bei der Katze noch für längere Zeit eine deutliche Herabsetzung.

Von Kiessling[4] wurde in Versuchen am isolierten Froschherzen gefunden, daß Tetrachlorkohlenstoff fünfmal giftiger auf das Herz wirkt als Chloroform. Dieser Befund, der mit ähnlichen Untersuchungen von Chopra

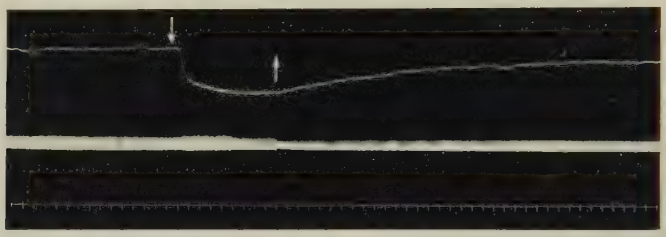


Abb. 1. Kaninchen, 2,2 kg, Urethannarkose. Obere Kurve = Carotisdruck. Untere Kurve = Atmung. Von ↓ bis ↑ Inhalation von 10 mg% CCl_4. Zeitmarkierung: 20 Sek.

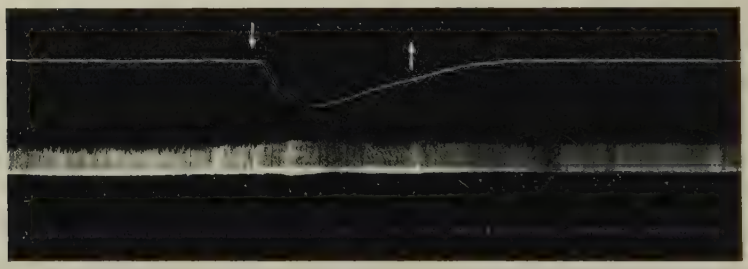


Abb. 2. Katze, 3,6 kg, Urethannarkose. Obere Kurve = Carotisdruck. Untere Kurve = Atmung. Von ↓ bis ↑ Inhalation von 10 mg% CCl_4. Zeitmarkierung: 20 Sek.

und Borland Mc. Vail[5] in Übereinstimmung steht, läßt es naheliegend erscheinen, als Ursache für die blutdrucksenkende Wirkung des Tetrachlorkohlenstoffs im wesentlichen eine Herzschädigung anzunehmen. Dies trifft aber sicherlich nur zum Teil zu, wie einige Versuche an Katzen zeigten, bei denen in Urethannarkose außer dem Blutdruck auch die Herztätigkeit plethysmographisch nach der Methode von Rothberger aufgezeichnet wurde. Da es sich herausstellte, daß die Herzfrequenz bei nicht vagotomierten Tieren mit Beginn der Inhalation auch schwächerer Tetrachlorkohlenstoffkonzentrationen deutlich abzunehmen pflegt, wurden die Versuche an vagotomierten Tieren vorgenommen. Die Folge war, daß die Blutdrucksenkung durch Tetrachlorkohlenstoff jetzt weniger abrupt und

[4] Kiessling, W.: Biochem. Z. **114**, 292 (1921). — [5] Chopra, R. N., u. J. Borland Mc. Vail: Indian. med. gaz. **58**, 453 (1923).

auch etwas schwächer auftrat als sonst; ein Befund, der mit dem Ausbleiben der Bradycardie im Zusammenhang stehen dürfte. Im übrigen zeigten die Versuche, daß bei kurzdauernder Einatmung nicht zu hoher Tetrachlorkohlenstoffkonzentrationen keine wesentliche Herzschädigung einzutreten pflegt, so daß angenommen werden muß, daß die hierbei zu beobachtende Blutdrucksenkung vorwiegend auf einer Gefäßlähmung beruht. Die Abb. 3 gibt einen dieser Versuche wieder. Man erkennt, daß während der Blutdrucksenkung (von 85 auf 55 mm Hg), die im Verlauf der Beatmung mit einem Gemisch eintrat, das 100 mg Tetrachlorkohlenstoff im Liter Luft enthielt, am Herzen zunächst keine Änderung der Amplitude und des Volumens erfolgte. Erst etwas später trat gleichzeitig mit der leichten Verminderung der Amplitude auch eine leichte Dilatation des Herzens ein, die sich nach der Beendigung der CCl_4-Zufuhr rasch zurückbildete.

Abb. 3. Katze, 4,4 kg, Urethannarkose. Obere Kurve Carotisdruck. Untere Kurve = Cardiometer. Von ▼ bis ▲ Inhalation von 10 mg% CCl_4. Zeitmarkierung: 20 Sek.

Die Wiederholung des Versuchs am decapitierten Tier zeigte, daß hier eine Blutdrucksenkung durch die genannte Tetrachlorkohlenstoffkonzentration nicht oder doch erst nach längerer Beatmung gleichzeitig mit einem Nachlassen der Herzarbeit erfolgte.

Die Senkung des Blutdrucks, die bei Inhalation schwächerer bis mittlerer Tetrachlorkohlenstoffkonzentrationen eintritt, beruht mithin außer auf einer mehr oder minder starken Bradycardie im wesentlichen auf einer zentral bedingten Gefäßerweiterung.

Bei der Inhalation höherer Tetrachlorkohlenstoffkonzentrationen (etwa ab 150 mg/Liter) kommt es ziemlich gleichzeitig mit oder kurz nach dem Beginn der oft sehr rasch eintretenden Blutdrucksenkung zu einer erheblichen Abnahme des Schlagvolumens und Dilatation des Herzens (vgl. Abb. 4). Die Herzfrequenz kann hierbei auch am vagotomierten Tier deutlich abnehmen.

Im Gegensatz zum Blutdruck, der gewöhnlich selbst nach verhältnismäßig leichten Schädigungen durch Tetrachlorkohlenstoff die alte Höhe nur langsam wieder erreicht, pflegen sich die Erscheinungen am Herzen in der Regel bald nach dem Abschluß einer kürzere Zeit fortgesetzten Inhalation nicht zu hoher Konzentrationen (bis zu etwa 250 mg/Liter) weitgehend

zurückzubilden (vgl. z. B. Abb. 4). Andernfalls tritt nach einiger Zeit diastolischer Stillstand des stark dilatierten Herzens ein.

Ähnlich wie Tetrachlorkohlenstoff, jedoch etwas schwächer, wirkt Tetrachloräthylen auf Blutdruck und Atmung, wie Versuche des einen von uns (Fiedler[6]) an Kaninchen und Katzen zeigte. Beide Verbindungen verursachten bei peroraler Verabfolgung nicht zu hoher Dosen nur eine geringe Blutdrucksenkung.

Abb. 4. Katze, 2,8 kg, Urethannarkose. Obere Kurve Carotisdruck. Untere Kurve = Cardiometer. Von ▼ bis ▲ Inhalation von 20 mg% CCl_4. Zeitmarkierung: 20 Sek.

Zusammenfassung.

Die Inhalation von Tetrachlorkohlenstoff-Luftgemischen verursacht bereits nach kurzer Dauer starken Blutdruckabfall, der vorwiegend auf einer zentral bedingten Gefäßlähmung, bei höherer Tetrachlorkohlenstoffkonzentration aber außerdem auf einer Herzschädigung beruht.

[6] Fiedler: Dissertation Hamburg, 1939.

Aus dem Pharmakologischen Institut (Direktor: Prof. S. Janssen) und der Frauenklinik (Direktor: Prof. F. Siegert) der Universität Freiburg i. Br.

Nikotin und innere Sekretion.

I. Funktionsstörungen innersekretorischer Organe durch Nikotin.

Von

Kurt Erbacher — Pharmakologisches Institut
Paul Grumbrecht — Frauenklinik
Arnold Loeser — Pharmakologisches Institut

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. März 1940.)

I. Einleitung.

Schon vor Jahren hat Lorand[1] auf die Tatsache aufmerksam gemacht, daß die Frau dem Tabak gegenüber weniger widerstandsfähig sein soll als der Mann. Dieses unterschiedliche Verhalten führt er in erster Linie darauf zurück, daß Nikotin auf die Schilddrüse einwirkt, welche ja bekanntlich bei der Frau durch die verschiedenen Phasen des Geschlechtslebens (Menstruation, Gravidität, Klimakterium) größeren Belastungen ausgesetzt ist als beim Manne. Daneben soll sich Nikotin bei beiden Geschlechtern auch auf die Keimdrüsen in nachteiliger Weise auswirken. Hofstätter[2] weist in seinem Buch „Die rauchende Frau" darauf hin, daß die klinischen Erscheinungen nach Nikotinabusus bei Frauen häufig Symptomen ähneln, wie man sie bei Hyper- und Hypothyreosen zu beobachten pflegt. Auf die Ähnlichkeit des klinischen Bildes der Hyperthyreose mit dem Symptomenbild nikotingeschädigter Menschen wird auch von Külbs[3], Strauss[4] u. a. verwiesen.

Die angeführten Beobachtungen lassen in Verbindung mit eigenen Versuchen[5] daran denken, daß die von Lorand, Hofstätter u. a. angegebenen Störungen der Ovarialtätigkeit keine unmittelbare Folge der Nikotineinwirkung sind, sondern vielmehr eine Auswirkung der durch Nikotin im Sinne einer Hyper- oder Hypofunktion veränderten Schilddrüsenfunktion darstellen. Wir konnten nämlich zeigen, daß neben der

[1] Lorand, A.: Das rasche Altern der Frauen nach gewissen Schädlichkeiten. Wien-Leipzig 1918. Perles, zit. nach Hofstätter. — [2] Hofstätter, R.: Die rauchende Frau, S. 90. Wien-Leipzig 1924. Hölder-Pichler-Tempsky. Siehe auch M. Hirsch: Leitfaden der Berufskrankheiten der Frau. Stuttgart, Enke, 1919. — [3] Külbs, F.: Z. Klin. Med. **99**, 259 (1924); Schlumm: Ebenda **120**, 648 (1932). — [4] Strauss, L. H.: Erg. inn. Med. **52**, 432 (1937); siehe auch Frühauf: Hippokrates 1936, S. 445. — [5] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 345 (1938); **192**, 202 (1939); Loeser: Vortrag Pharmakologentagung 1938, Berlin; XVI. Intern. Physiologenkongreß, Zürich 1938; Grumbrecht u. Loeser: Klin. Wschr. **1939**, S. 1018.

Hypophyse auch die Schilddrüse an dem geregelten Ablauf der Ovarialfunktionen maßgeblich beteiligt ist. Dies ergibt sich zunächst aus der Tatsache, daß Schilddrüsenstoffe die Eireifungsvorgänge im Ovarium beschleunigen. Diese Beschleunigung kommt dadurch zustande, daß Schilddrüsenstoffe die Empfindlichkeit des Ovariums für die gonadotropen Wirkstoffe der Hypophyse im Sinne der Sensibilisierung beeinflussen. Außerdem ist bekannt, daß Menstruationsstörungen als Symptom einer Störung der Ovarialtätigkeit schon allein durch Erkrankungen der Schilddrüse auf dem genannten Wege entstehen.

Sollte die nachteilige Beeinflussung der Ovarialfunktionen nach Einwirkung von Nikotin tatsächlich nur auf einer Störung der Schilddrüsentätigkeit beruhen, so müßten in diesen Organen entsprechende anatomische oder funktionelle Veränderungen zu erwarten sein. Die bisher vorliegenden Untersuchungen[6] geben über diese Frage keinen befriedigenden Aufschluß. Es liegen zwar eine ganze Reihe von Beobachtungen über anatomische Veränderungen der Schilddrüse nach Einwirkung von Nikotin vor[7]. Die Ergebnisse sind jedoch widersprechend und die Versuchsbedingungen (Art des verwendeten Präparats, Dosis, Art der Verabreichung, Versuchsdauer, Tierart, Alter der Tiere, Nahrung u. a.) so verschieden, daß ein Vergleich der gewonnenen Befunde unmöglich ist. Man hat entweder keine, geringe oder schwere anatomische Veränderungen festgestellt. Dasselbe gilt für das Ovarium[8].

Zur Entscheidung der gestellten Frage haben wir daher unter Berücksichtigung gleichmäßiger Bedingungen den Einfluß von Nikotin auf die Struktur und Funktion von Schilddrüse und Ovarium näher geprüft. Gleichzeitig wurde das Verhalten der männlichen Keimdrüsen, des Pankreas, der Hypophyse, der Epithelkörperchen und der Nebennieren untersucht.

Die Untersuchungen umfassen:

1. Die Folgen dauernder Nikotineinwirkung auf innersekretorische Drüsen.

2. Die Frage der Arbeitsschäden der Frau in Tabakfabriken.

3. Erbpathologische Untersuchungen über Keimschädigungen durch Nikotin.

---

[6] Siehe die ausführliche Literaturzusammenstellung in F. Lickint: Tabak und Organismus. Stuttgart, Hippokrates-Verlag, 1939. — [7] Strauss, L. H.: Erg. inn. Med. **52**, 432 (1937); Z. exper. Med. **100**, 209 (1937); Kosdoba: Arch. klin. Chir. **156**, 555 (1930); Strauss, L. H., u. Scheer: Klin. Wschr. **1936**, S. 187; Hofstätter, R.: Virchows Arch. **244**, 191 (1923); Crispino: Zit. nach Handb. d. spez. Pathol. Anat. u. Histol., Bd. 10, S. 374. Berlin, Jul. Springer, 1930; Stadtländer: Inaugural-Dissertation, Kiel 1936; Staemmler: Virchows Arch. **295**, 366 (1935). — [8] Hofstätter, R.: Ebenda **244**, 183 (1923); Perazzi: Zit. nach Hofstätter: Ebenda, S. 208; Kosdoba: Arch. klin. Chir. **156**, 550 (1930); Unbehaun, G.: Arch. Gynäk. **147**, 371 (1931); Petit: Zit. nach Bonne: Münch. med. Wschr. **1934**, S. 918; Staemmler: Virchows Arch. **295**, 366 (1935); Stadtländer: l. c.; Yun u. Lee: Zit. nach Lickint.

In der vorliegenden Arbeit wird über den ersten Teil der Gesamtuntersuchungen, die Folgen dauernder Nikotineinwirkung auf innersekretorische Organe, berichtet.

II. Methodik.

Die Versuche wurden an verschiedenen Tierarten — weiblichen und männlichen Ratten sowie weiblichen Meerschweinchen — ausgeführt und erstreckten sich auf die histologische Untersuchung von Schilddrüse, Keimdrüsen, Hypophyse, Epithelkörperchen, Pankreas und Nebennieren sowie auf die quantitative Auswertung des thyreotropen und gonadotropen Hormons in der Hypophyse. Außerdem bestimmten wir den Blutzucker und den Sauerstoffverbrauch. Bei einem Teil der Ratten wurde täglich der Scheidenabstrich untersucht. Als Brunst bezeichnen wir nur das reine Schollenstadium.

Für die Versuche wurden mehr als 500 Ratten und 60 Meerschweinchen verwendet, welche unter gleichen Bedingungen in Einzelkäfigen aus Drahtgeflecht bei konstanter Raumtemperatur (20°) untergebracht waren. Als Futter erhielten die Ratten Küchenabfälle (Brot — Fleisch — Milch — Gemüse), die Meerschweinchen Rüben und Heu. Die Untersuchungen wurden in den Monaten April bis November ausgeführt.

Zur Bestimmung des gonadotropen und thyreotropen Hormons wurden die Hypophysen ganzer Tiergruppen in der von Keller, Grumbrecht und Loeser[9] angegebenen Weise vereinigt, gewogen, in Aceton getrocknet und das erhaltene Trockenpulver an Meerschweinchen (thyreotropes Hormon) bzw. an infantilen Mäusen (gonadotropes Hormon) ausgewertet.

Zur Untersuchung des Sauerstoffverbrauchs bedienten wir uns der von Loeser und Mitarbeiter[10] beschriebenen Apparatur. Alle Versuche wurden an nüchternen Tieren bei einer konstanten Temperatur von 30° vorgenommen.

Die Bestimmung des Blutzuckers erfolgte nach der Methode von Hagedorn-Jensen.

Als Nikotinpräparat benutzten wir Nicotinum puriss. Merck, das den Tieren subcutan injiziert wurde. Die tägliche Einzeldosis betrug 25 γ (Dosis I), 5 γ (Dosis II) oder 50 γ (Dosis III). Es sei an dieser Stelle darauf aufmerksam gemacht, daß nach den Angaben von Lickint[11] in einer Zigarette von 1 g Gewicht 15 mg = 15000 γ Nikotin enthalten sind. Die Einteilung der Tiere sowie die Dauer der Behandlung ist in Tabelle 1 übersichtlich zusammengestellt. Es muß darauf hingewiesen werden, daß neben jeder einzelnen Versuchsgruppe je eine gleichgroße Kontrollgruppe, welche in demselben Raum untergebracht war, geführt wurde. Auf die letzt-

[9] Grumbrecht, Keller, Loeser: Klin. Wschr. **1938**, S. 801. — [10] Loeser und Mitarbeiter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 669 (1938). — [11] Lickint: l. c., S. 71.

genannte Vorsichtsmaßnahme kann bei vergleichenden Untersuchungen innersekretorischer Drüsen nicht oft genug aufmerksam gemacht werden.

Tabelle 1. Versuchsanordnung.

Zahl der Tiere pro Versuchsgruppe	Nikotinmenge in γ		Dauer der Behandlung in Tagen	Zahl der Tiere pro Versuchsgruppe	Nikotinmenge in γ		Dauer der Behandlung in Tagen
	Tagesmenge	Gesamtmenge			Tagesmenge	Gesamtmenge	
	Weibliche Ratten				Männliche Ratten		
			Unbehandelte Vergleichstiere.				
10	—	—	10	10	—	—	10
10	—	—	20	10	—	—	20
10	—	—	30	10	—	—	30
10	—	—	60	10	—	—	60
10	—	—	90	10	—	—	90
10	—	—	270	10	—	—	270
			Versuchstiere Dosis I.				
10	25	250	10	10	25	250	10
10	25	500	20	10	25	500	20
10	25	750	30	10	25	750	30
10	25	1500	60	10	25	1500	60
10	25	2250	90	10	25	2250	90
10	25	6750	270	10	25	6750	270
			Versuchstiere Dosis II.				
10	5	50	10	10	5	50	10
10	5	100	20	10	5	100	20
10	5	150	30	10	5	150	30
10	5	300	60	10	5	300	60
10	5	450	90	10	5	450	90
10	5	1350	270	10	5	1350	270
			Versuchstiere Dosis III.				
10	50	1000	20	10	50	1000	20
10	50	1500	30	10	50	1500	30
10	50	2000	40	10	50	2000	40

III. Die Folgen dauernder Nikotineinwirkung auf innersekretorische Drüsen.

Die Wirkung des Nikotins wird wie die der meisten Gifte durch die Höhe der Dosis einerseits und durch die Zeit der Einwirkung andererseits bestimmt. Je nach dem Ausmaß dieser Faktoren kann dabei eine Schädigung einzelner Organe, eine Allgemeinschädigung oder auch beides zusammen auftreten. Will man das Verhalten innersekretorischer Organe gegenüber Giften prüfen, dann müssen Allgemeinschäden nach Möglichkeit vermieden werden. Es ist nämlich bekannt, daß gerade endokrine Drüsen gegenüber allen Einflüssen, die den Gesamtorganismus treffen, im allgemeinen besonders empfindlich sind. Daraus folgt, daß anatomische und funktionelle Veränderungen dieser Organe nur dann als unmittelbare Folgen der Gifteinwirkung gewertet werden dürfen, wenn Allgemeinschädigungen fehlen. Diese Tatsache ist nur allzu häufig vernachlässigt worden.

Um derartige Allgemeinschädigungen des Organismus durch Nikotin mit Sicherheit auszuschließen, haben wir in unseren Versuchen das Allgemeinbefinden (Freßlust, Angriffslust u. a.), das Körpergewicht und das Wachstum der Versuchstiere während der ganzen Beobachtungszeit mit dem von unbehandelten gleichaltrigen Tieren verglichen. Wie aus Tabelle 1 zu ersehen ist, waren die Ratten in Gruppen von je 10 Tieren eingeteilt. Das Gewicht der Ratten betrug zu Beginn der Versuche immer 45—55 g. Die Behandlung dauerte 10, 20, 30, 40, 60, 90 und 270 Tage. Zur Untersuchung kamen drei verschiedene Nikotinmengen: 25, 5 und 50 γ. Die zu

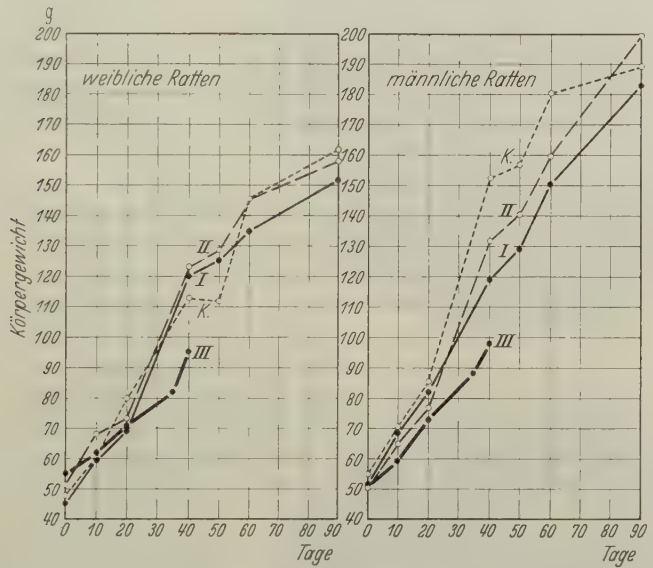
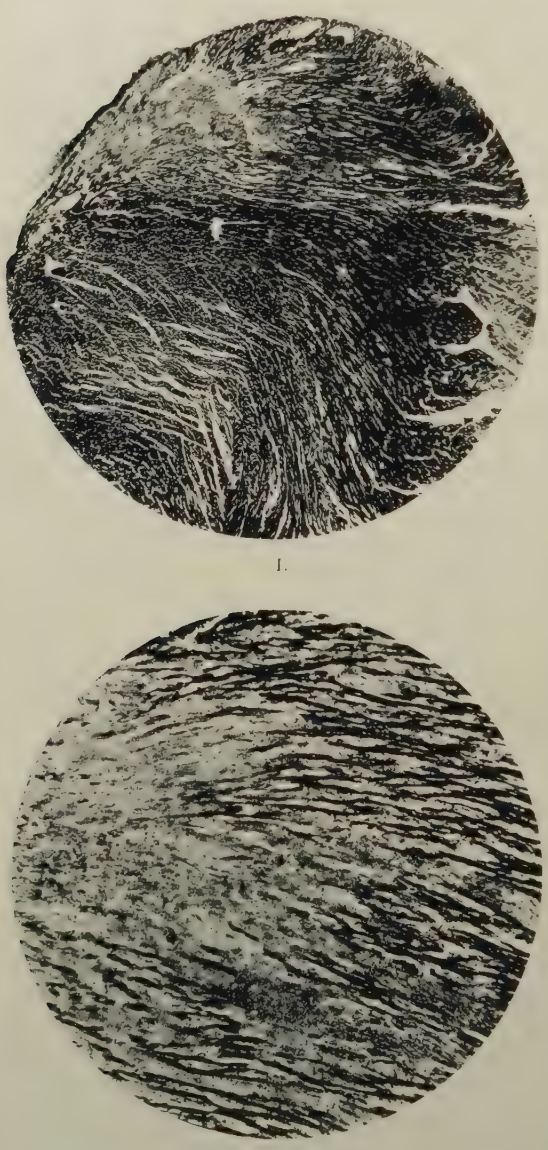


Abb. 1. Das Verhalten des Körpergewichtes von Ratten bei dauernder Einwirkung von Nikotin. Abszisse: Behandlungszeit in Tagen. Ordinate: Körpergewicht in g. Kurve *I* entspricht den Mittelwerten der Versuchstiere Dosis I (Tagesmenge: 25 γ Nikotin), Kurve *II* den Mittelwerten der Versuchstiere Dosis II (Tagesmenge: 5 γ Nikotin), Kurve *III* den Mittelwerten der Versuchstiere Dosis III (Tagesmenge: 50 γ Nikotin) und Kurve *K* den Mittelwerten der unbehandelten Vergleichstiere.

verabreichende Nikotindosis war jeweils in 0,1 ccm physiologischer Kochsalzlösung enthalten.

Dosis I (25 γ) und Dosis II (5 γ) wurde von der Mehrzahl der Tiere vertragen, ohne daß besondere Erscheinungen (Krämpfe, Somnolenz) unmittelbar im Anschluß an die Injektion auftraten. Irgendwelche Unterschiede im Verhalten weiblicher und männlicher Ratten konnten wir selbst nach 270tägiger Behandlung nicht feststellen. Auch auf die Entwicklung der Versuchstiere hatten die verwendeten Nikotinmengen keinen Einfluß (Abb. 1). Erhöht man jedoch die tägliche Dosis von 25 auf 50 γ (Dosis III), so bleiben Wachstum und Körpergewicht im Vergleich zu unbehandelten Tieren zurück (siehe Abb. 1). Ebenso treten bei der Mehrzahl dieser Tiere

während der ersten Hälfte der Versuchszeit (Gesamtdauer: 40 Tage) unmittelbar nach der Injektion kurzdauernde Erregungszustände in Form von klonisch-tonischen Krämpfen auf. Im Gegensatz zu den Versuchsgruppen der niedrigeren Dosen I und II verhielten sich die weiblichen und männlichen Tiere welche die höhere Dosis III erhalten hatten, hinsichtlich der Verträglichkeit verschieden. So betrug die Sterblichkeit bis zum 20. Tage bei den weiblichen Tieren nur 2%, bei den männlichen dagegen 10%.



I.

II.

Abb. 1a. Muskelnekrose in der Herzspitze einer Ratte, die 20 Tage täglich 50 γ Nikotin subcutan erhalten hatte (in der Abbildung oben links). I, Lupenvergrößerung, II. Ausschnitt aus der Nekrose bei starker Vergrößerung (72fach). Färbung: Malory.

Während sich bei den Tieren der Dosis I und II keine Organschädigungen nachweisen ließen, fanden sich bei mehreren der mit Dosis III behandelten Tiere schon am 20. Versuchstage Nekrosen im Herzmuskel (Abb. 1a). Die Veränderungen waren vorwiegend unmittelbar unter dem Endokard und in den Papillarmuskeln anzutreffen. Es muß hervorgehoben werden, daß die Veränderungen bei Fortdauer der Nikotinzufuhr nicht stärker werden. Infolge Gewöhnung an das Gift findet man bei solchen Tieren keine frischen Nekrosen mehr, sondern nur zahlreiche alte Bindegewebsherde (Schwie-

len). Im Gegensatz zu den Angaben von Staemmler[12] war die beschriebene Myokardschädigung bei den Versuchstieren der Dosis III (50 γ) schon am 20. Behandlungstage nachweisbar. Bei den nicht behandelten Vergleichstieren haben wir nie Herzmuskelveränderungen gesehen.

Um das Verhalten der innersekretorischen Drüsen nach Einwirkung von Nikotin kennenzulernen, wurden die einzelnen Gruppen der Versuchs- und Kontrolltiere nach Ablauf der jeweiligen Behandlungszeit durch Entbluten getötet, die endokrinen Organe gewogen und anschließend histologisch untersucht.

1. Der Einfluß von Nikotin auf die Struktur und die Funktion der Schilddrüse.

Obwohl das Gewicht der Schilddrüse von Ratten bei täglicher Einwirkung von 25 γ (Dosis I) oder 5 γ (Dosis II) keine nennenswerten Veränderungen erfährt (Abb. 2), weicht das histologische Bild je nach der

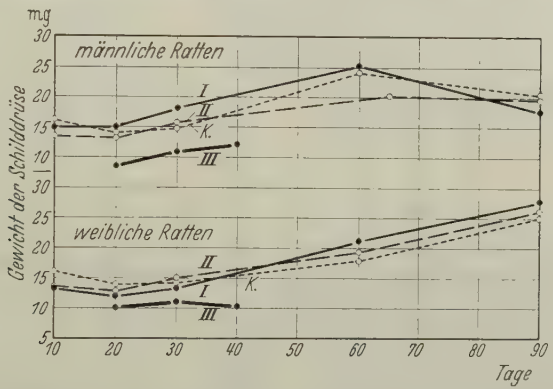
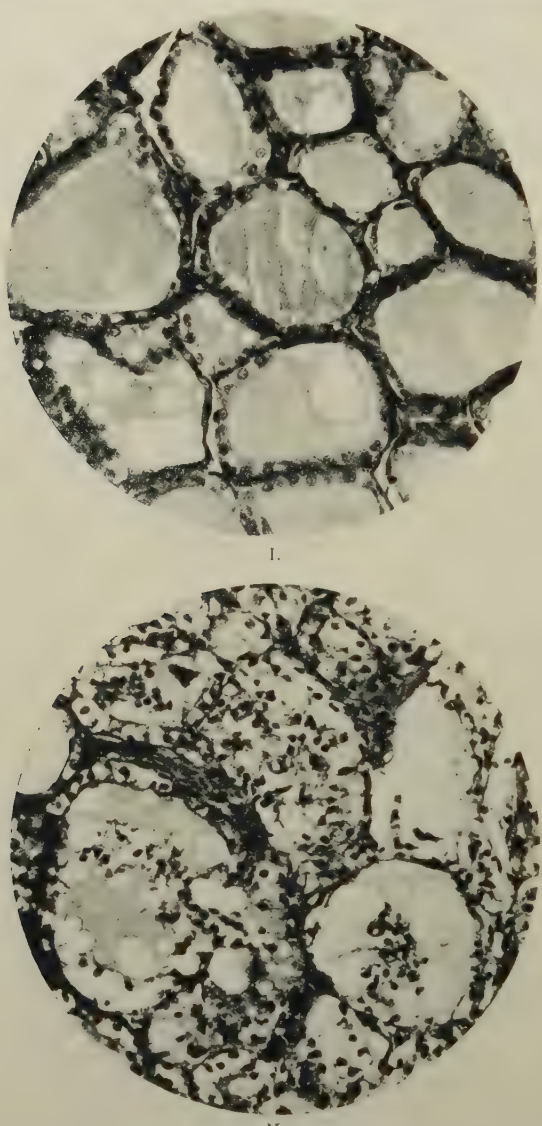


Abb. 2. Der Einfluß von Nikotin auf das Gewicht der Schilddrüse von Ratten. Abszisse: Behandlungszeit in Tagen. Ordinate: Gewicht der Schilddrüsen in mg. Kurve *I* entspricht den Mittelwerten der Versuchsgruppe Dosis I (Tagesmenge: 25 γ Nikotin), Kurve *II* den Mittelwerten der Versuchsgruppe Dosis II (Tagesmenge: 5 γ Nikotin), Kurve *III* den Mittelwerten der Versuchsgruppe Dosis III (Tagesmenge: 50 γ Nikotin) und Kurve *K* den Mittelwerten der unbehandelten Vergleichsgruppe.

Dauer der Behandlungszeit von dem normaler Ratten ab. Während die Schilddrüsen aller Kontrolltiere immer das gleiche Aussehen zeigen (mittelhohes Epithel, teilweise Resorption des Kolloids), fanden sich in den Schilddrüsen der mit Nikotin behandelten Tiere schon nach 10—20tägiger Einwirkung Veränderungen, die auf eine Herabsetzung der Schilddrüsentätigkeit hinweisen. Das Follikelepithel ist flach, teilweise endothelartig. Die Follikel sind vollständig mit Kolloid gefüllt, welches vielfach abgestoßene Epithelzellen enthält. Diese Erscheinungen sind sowohl bei männlichen als auch bei weiblichen Tieren anzutreffen. Sie fehlten jedoch bei den Tieren, die 270 Tage täglich 5 oder 25 γ Nikotin erhalten hatten. Hier war das anatomische Bild der Schilddrüse wieder normal.

[12] Staemmler: Virchows Arch. **295**, 392 (1935).

Im Gegensatz zu den vorstehenden Befunden treten bei Erhöhung der Nikotindosen von 5 bzw. 25 γ auf 50 γ (Dosis III) schwerere Veränderungen in der Schilddrüse auf. Dies geht schon aus dem Verhalten des Gewichts der Schilddrüse hervor, welches, wie Abb. 2 zeigt, im Vergleich zu dem von Kontrolltieren zurückbleibt. Bei der mikroskopischen Untersuchung des Organs finden sich ebenso wie bei den mit kleineren Nikotinmengen behandelten Tieren bereits am 20. Behandlungstage die anatomischen Zeichen einer herabgesetzten Tätigkeit. Außerdem lassen sich in der Mehrzahl dieser Organe gleichzeitig degenerative Veränderungen nachweisen. Das histologische Bild ist im ganzen unregelmäßig (Abb. 3). An Stelle der gleichgroßen und gleichmäßig angeordneten Follikel ist hier die Größe der Follikel verschieden. Normal große Follikel wechseln einerseits mit Follikelcysten, andererseits mit zahlreichen kleinen, weitgehend geschrumpften Follikeln ab. Die letzteren liegen einzeln oder in ganzen Gruppen zusammen. Während die größeren Follikel vollständig mit eosinophilem Kolloid ausgefüllt sind, fehlt dieses in den kleineren Follikeln vollständig. Bei starker Vergrößerung erkennt man, daß das Proto-



I.

II.

Abb. 3. Der Einfluß von Nikotin auf die Struktur der Schilddrüse von Ratten. I. Schilddrüse einer unbehandelten Ratte. II. Schilddrüse einer Ratte, die 40 Tage täglich 50 γ Nikotin erhalten hatte. Färbung: Hämatoxylin-Eosin. Vergr. 270fach.

plasma der Epithelzellen der kleinen Follikel große Vakuolen enthält. Die Zellgrenzen sind verwaschen, die Zellkerne geschrumpft und zum Teil in Auflösung begriffen. Die Degenerationen sind nach 40tägiger Behandlung nicht stärker als nach 20tägiger Behandlung. Diese Tatsache ist vermutlich auf eine Gewöhnung an das Nikotin zurückzuführen. Es muß hervorgehoben werden, daß sich die beschriebenen degenerativen Veränderungen in der Schilddrüse nur bei solchen Tieren fanden, bei denen gleichzeitig Allgemeinschäden des Organismus (Zurückbleiben des Wachs-

Tabelle 2. Das Verhalten der Schilddrüsen von Meerschweinchen nach Behandlung mit Nikotin.

Dosierung: Gruppe I vom 1.—6. Tage 750 γ, vom 7.—19. Tage 1500 γ und vom 20.—59. Tage 2250 γ Nikotin pro 100 g Körpergewicht.

Gruppe II vom 1.—6. Tage 75 γ, vom 7.—19. Tage 150 γ und vom 20.—59. Tage 1500 γ Nikotin pro 100 g Körpergewicht.

Tier Nr.	Tiergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Tiergewicht in g am Ende des Versuchs	Versuchszeit in Tagen	Gewicht der Schilddrüsen in mg	Histologischer Schilddrüsenbefund
			Gruppe I.		
15	390	350	12	64	Normale Drüse, das Kolloid ist stellenweise resorbiert
4	370	320	12	50	Normale Drüse
11	395	355	12	50	Wie 15
96	350	305	12	36	Geringe Erhöhung des Epithels, das Kolloid ist stellenweise resorbiert
2	365	325	12	64	Normale Drüse
3	385	355	12	60	
9	435	390	12	46	
89	405	460	59	54	Endotheldrüse
124	460	555	59	94	
170	380	400	59	42	
109	420	460	59	90	
125	315	360	59	59	
			Gruppe II.		
98	405	360	12	69	Normale Drüse
92	355	305	12	52	
20	365	280	12	62	
39	320	270	12	42	
84	400	370	12	54	
93	350	325	12	54	
19	405	385	12	82	
112	325	380	59	44	Endotheldrüse
57	390	450	59	72	
2222	300	385	59	57	
2067	285	360	59	52	
169	275	355	59	70	Normale Drüse
23	285	395	59	45	Endotheldrüse
127	325	415	59	70	

Tabelle 3. Der Einfluß von Nikotin auf den Stoffwechsel von weiblichen Meerschweinchen*.

Gruppe I.

Tier Nr.	O_2-Verbrauch in ccm pro g/Stunde vor der Behandlung					O_2-Verbrauch in ccm pro g/Stunde während der Behandlung mit Nikotin																	
						Tag der Behandlung																	
	I.	II.	III.	IV.	Mittelwert	3	6	9	11	15	18	21	24	27	29	31	35	38	41	44	46	50	53	59
89	1,24	1,11	1,25	1,10	1,18	1,09	1,07	1,05	0,96	1,14	1,00	1,13	1,04	1,00	1,08	1,07	1,06	0,94	0,98	1,04	1,00	1,02	1,24	1,07
124	1,05	1,24	1,15	1,08	1,13	1,07	1,01	0,95	1,25	1,22	1,13	1,19	1,10	1,11	1,24	1,19	1,14	1,06	1,00	1,16	0,98	1,06	1,00	1,18
168	1,05	0,94	0,99	0,93	0,98	1,04	0,92	0,90	1,08	1,15	1,06	0,98	†											
170	0,77	0,72	0,76	0,81	0,77	0,72	0,81	0,75	1,01	0,96	0,83	0,81	0,90	1,05	1,15	1,16	1,05	0,91	0,76	0,85	0,86	0,98	0,93	0,63
109	1,06	1,16	0,99	1,11	1,08	1,06	1,08	1,04	1,04	1,11	1,08	1,01	0,99	1,07	0,97	1,03	1,00	0,89	1,15	—	0,99	0,93	0,99	1,03
166	1,09	1,19	1,04	1,14	1,12	1,10	1,14	1,13	1,18	1,08	1,33	1,14	1,05	1,08	1,13	0,99	1,08	0,95	1,01	†				
2014	1,18	1,13	1,16	1,10	1,14	1,06	1,01	1,15	1,25	1,24	1,31	†												
125	0,96	0,93	0,91	0,91	0,93	1,19	0,87	1,06	0,96	1,10	1,13	1,21	1,13	1,00	1,14	0,90	0,89	0,89	0,93	1,03	—	0,82	—	1,00

Gruppe II.

Tier Nr.	O_2-Verbrauch in ccm pro g/Stunde vor der Behandlung					O_2-Verbrauch in ccm pro g/Stunde während der Behandlung mit Nikotin																	
						Tag der Behandlung																	
	I.	II.	III.	IV.	Mittelwert	4	7	9	11	15	17	22	25	27	30	34	36	39	42	45	49	53	57	59
112	0,94	0,91	0,94	0,91	0,93	0,96	0,77	0,93	0,95	0,99	0,87	0,96	0,95	0,93	0,80	0,83	0,91	1,11	0,93	0,85	0,81	0,84	0,70	0,89
57	1,06	1,06	0,97	0,98	1,02	0,93	1,02	1,02	1,21	1,13	0,98	0,88	0,99	1,04	0,95	1,07	0,93	1,18	0,95	1,15	0,96	1,15	0,88	1,03
2222	1,19	1,00	1,03	0,96	1,05	1,01	0,92	1,03	1,16	1,18	1,11	1,04	0,94	1,05	0,87	0,96	0,92	0,99	0,95	1,03	0,91	0,96	0,85	0,85
2067	0,95	1,08	0,85	0,94	0,95	0,89	0,86	1,15	1,22	1,20	1,02	0,99	1,19	1,00	0,95	1,16	0,96	0,99	1,03	1,09	1,01	1,01	0,99	0,96
169	0,83	1,06	1,03	0,93	0,96	1,06	1,06	1,00	1,00	1,00	1,00	0,85	0,89	1,05	1,00	1,06	0,95	1,21	0,89	0,92	0,99	0,86	0,80	0,94
127	0,95	1,02	1,08	1,05	1,03	1,12	1,13	1,17	1,24	0,98	1,15	1,02	0,88	0,93	0,98	0,97	1,08	1,14	1,04	1,01	0,90	0,95	1,07	1,15
24	1,10	1,06	1,14	0,99	1,07	1,17	1,27	1,20	1,20	1,13	1,25	0,96	1,02	1,19	1,25	1,21	1,21	1,05	1,12	1,18	1,08	1,06	0,94	†
23	1,15	0,90	0,98	0,85	0,97	1,14	1,33	1,18	1,29	1,25	1,17	1,06	1,05	1,10	1,16	0,96	1,00	1,02	1,04	1,24	0,97	1,00	1,02	1,15

* Die Untersuchung des Stoffwechsels wurde von Herrn cand. med. Kurt Erbacher ausgeführt.

tums und des Körpergewichts) sowie Schädigungen anderer Organe (Herz und Pankreas) beobachtet wurden.

Trotz Darreichung weit höherer Nikotinmengen (siehe Tabelle 2) als sie in den beschriebenen Versuchen mit Ratten gegeben wurden, waren beim Meerschweinchen keine degenerativen Veränderungen in den Schilddrüsen nachzuweisen. Vielmehr zeigte das Organ dieser Tiere vielfach dasselbe histologische Bild wie das von Ratten, welche Dosis I und II erhalten hatten.

Zur Prüfung der Schilddrüsenfunktion haben wir bei einem Teil der Meerschweinchen laufend den Sauerstoffverbrauch bestimmt. Wie aus

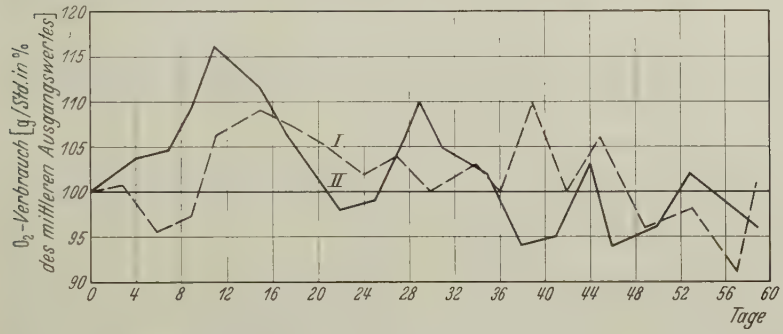


Abb. 4. Sauerstoffverbrauchswerte von weiblichen Meerschweinchen in Prozent des mittleren Ausgangswertes nach täglicher subcutaner Injektion von Nikotin. Abszisse: Behandlungszeit in Tagen. Ordinate: O_2-Verbrauch in ccm pro g/Stunde in Prozent des mittleren Ausgangswertes. Kurve *I* entspricht bis zum 21. Tage den Mittelwerten von 8, bis zum 44. Tage den Mittelwerten von 6 und bis zum 59. Tage den Mittelwerten von 5 Meerschweinchen. Kurve *II* entspricht bis zum 57. Tage den Mittelwerten von 8 und bis zum 59. Tage den Mittelwerten von 7 Meerschweinchen. Die Tiere der Gruppe I erhielten vom 1.—6. Tage 750 γ, vom 7.—19. Tage 1500 γ, und vom 20.—59. Tage 2250 γ Nikotin pro 100 g Körpergewicht. Bei den Tieren von Gruppe II betrugen die entsprechenden Nikotinmengen 75 γ, 150 γ und 1500 γ.

Tabelle 4. Wertbestimmung von thyreotropem Hormon in Hypophysen von mit Nikotin behandelten Ratten.

Art der Behandlung	Behandlungszeit in Tagen	Geschlecht der Tiere	Zahl der Spendertiere	Durchschnittsgewicht der frischen Hypophyse in mg	Durchschnittsgewicht d. getrockneten Hypophyse in mg	Gehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon in MsE.* pro mg Trockenhypophyse	Gehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon in MsE.* pro Gesamthypophyse
Unbehandelt	—	♀	8	5,4	1,12	5—10	~ 5—10
Tagesmenge Nikotin 5 γ	30	♀	8	5,12	1,00	5—10	5—10
Unbehandelt	—	♂	9	4,2	0,77	~ 5—10	~ 3— 8
Tagesmenge Nikotin 25 γ	30	♂	9	5,3	1,11	~ 5—10	~ 5—10
Tagesmenge Nikotin 5 γ	30	♂	9	4,8	0,77	~ 5—10	~ 3— 8
Tagesmenge Nikotin 50 γ	40	♀	9	4,9	1,11	~ 5—10	~ 5—10

* Meerschweincheneinheiten.

Tabelle 3 und Abb. 4 hervorgeht, steigt der Sauerstoffverbrauch zunächst an. Bei Fortsetzung der Behandlung fallen die Sauerstoffverbrauchszahlen später wieder ab und erreichen schließlich Werte, die unter der Norm liegen. Es handelt sich dabei nicht um gröbere Funktionsstörungen, sondern um geringe Abweichungen von der Norm, die jedoch mit Sicherheit über die normale Schwankungsbreite der Organfunktion hinausgehen.

Wie die Untersuchung der Hypophyse zeigt, scheint Nikotin die Schilddrüsentätigkeit auf unmittelbarem Wege zu beeinflussen. Gröbere Änderungen im Gehalt der Hypophyse an thyreotropem Hormon ließen sich nämlich nicht nachweisen (siehe Tabelle 4). Dies gilt für alle Ratten. gleichgültig, ob die Tiere 5, 25 oder 50 γ Nikotin erhalten hatten.

2. Der Einfluß von Nikotin auf die Struktur und die Funktion der Keimdrüsen.

A. Ovarium.

Über den Einfluß von Nikotin auf das Gewicht der Ovarien gibt Abb. 5 Aufschluß. Aus ihr geht hervor, daß das Gewicht der Ovarien sowie das Körpergewicht der Tiere, welche täglich 5 bzw. 25 γ Nikotin erhalten hatten,

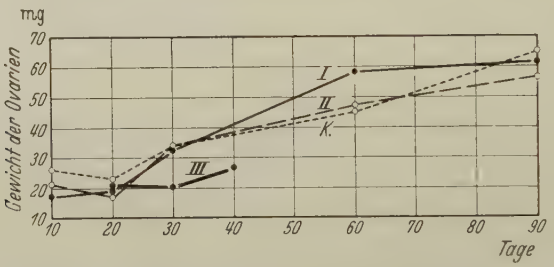


Abb. 5. Der Einfluß von Nikotin auf das Gewicht der Keimdrüsen weiblicher Ratten.
Abszisse: Behandlungszeit in Tagen. Ordinate: Gewicht der Ovarien in mg. Kurve I entspricht den Mittelwerten der Versuchsgruppe Dosis I (Tagesmenge: 25 γ Nikotin), Kurve II den Mittelwerten der Versuchsgruppe Dosis II (Tagesmenge: 5 γ Nikotin), Kurve III den Mittelwerten der Versuchsgruppe Dosis III (Tagesmenge: 50 γ Nikotin) und Kurve *K* den Mittelwerten der unbehandelten Vergleichsgruppe.

während der ganzen Behandlungszeit gegenüber unbehandelten Kontrolltieren keine Änderung erfährt. Dagegen blieb bei den Tieren, die mit Dosis III behandelt wurden, sowohl das Körpergewicht als auch das Gewicht der Ovarien zurück.

Die histologische Untersuchung der Ovarien ließ zwischen behandelten und unbehandelten Tieren keine Unterschiede erkennen. Bei allen Ratten fanden sich in den Ovarien neben reifenden Follikeln aller Entwicklungsgrade Corpora lutea. Dies gilt auch für die Tiere, die bereits Allgemeinschädigungen aufwiesen (Dosis III). Degenerative Veränderungen an den Ei- und den Granulosazellen, wie sie von anderer Seite beschrieben worden sind, waren nicht nachzuweisen. Hier stehen unsere Befunde in

Tabelle 5. Wertbestimmung von gonadotropem Hormon in Hypophysen von mit Nikotin behandelten Ratten.

Art der Behandlung	Behandlungszeit in Tagen	Geschlecht der Tiere	Zahl der Spendertiere	Durchschnittsgewicht		Gonadotropes Hormon		
				der frischen Hypophyse in mg	der getrockneten Hypophyse in mg	Dosis in mg Trockenhypophyse	Ovarieller Wirkungsgrad *	Oestrus
Unbehandelt	—	♀	9	4,3	0,77	6 · 0,2—0,4	I + III	+
Tagesmenge Nikotin 25 γ	10	♀	9	4,2	0,77	6 · 0,2—0,4	I + II	+
Tagesmenge Nikotin 5 γ	10	♀	9	3,8	0,77	6 · 0,2—0,4	I + II + III	+
Unbehandelt	—	♀	8	6,3	1,44	6 · 0,2—0,4	I + III	+
Tagesmenge Nikotin 25 γ	60	♀	8	5,4	1,14	6 · 0,2—0,4	I + II	+
Tagesmenge Nikotin 5 γ	60	♀	9	7,4	1,11	6 · 0,2—0,4	I + III	+

* Ovarieller Wirkungsgrad: I = Follikelreifung, II = Massenblutung in den Follikel (Blutpunkt), III = Auftreten von Corpora lutea.

voller Übereinstimmung mit den Angaben von Staemmler [13], der in den Ovarien von mit Nikotin behandelten Ratten ebenfalls keine krankhaften Erscheinungen feststellen konnte.

Auf das Erhaltenbleiben der Ovarialfunktionen weisen außer dem anatomischen Bild noch folgende Tatsachen hin:

Erstens läßt sich zeigen, daß auch die Struktur und die Funktion des dem Ovarium übergeordneten Organs, des Hypophysenvorderlappens, keinerlei Veränderungen erfährt. Wie aus Tabelle 5 zu entnehmen ist, bleibt der Gehalt der Hypophyse an gonadotropem Hormon wie bei den Kontrollen gleich.

Zweitens deuten die Vorgänge an den Erfolgsorganen des Ovariums — Uterus und Scheide — ebenfalls darauf hin, daß die Ovarialfunktionen erhalten bleiben. Im Ablauf des Scheidenzyklus ließen sich jedoch Unregelmäßigkeiten nachweisen (Abb. 6). Die gleiche Beobachtung machten auch Stadtländer [14] (Mäuse) sowie Nakasawa [15] (Ratten). Auf die wichtige Frage, ob Nikotin trotz fehlender anatomischer Veränderungen im Ovarium nicht dennoch die Keimzellen schädigen kann, soll später eingegangen werden.

Wie das anatomische Bild der Scheide entsprach auch das Aussehen der Uterusschleimhaut dem jeweiligen Funktionszustand des Ovariums. Ebenso war die Ansprechbarkeit des Uterus gegenüber der Einwirkung von Hypophysenhinterlappenextrakten bei behandelten und unbehandelten Tieren gleich (Abb. 7).

[13] Staemmler: Virchows Arch. **295**, 391 (1935). — [14] Stadtländer: Z. exper. Med. **99**, 672 (1936). — [15] Nakasawa: Zit. nach Lickint, S. 799.

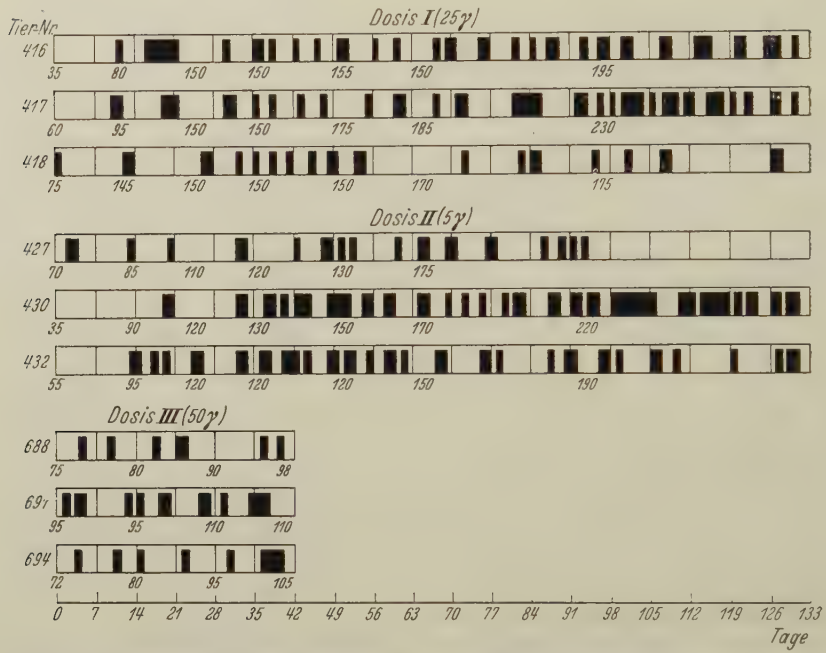


Abb. 6. Das Verhalten des Cyclus der Scheide von Ratten bei täglicher Injektion von 25 γ (Dosis I), 5 γ (Dosis II) und 50 γ (Dosis III) Nikotin (subc.). ⊥ = Schollenstadium. Die Kurven stellen eine Auswahl aus 50 untersuchten Ratten dar. Die Zahlen geben das Gewicht der Tiere in g an.

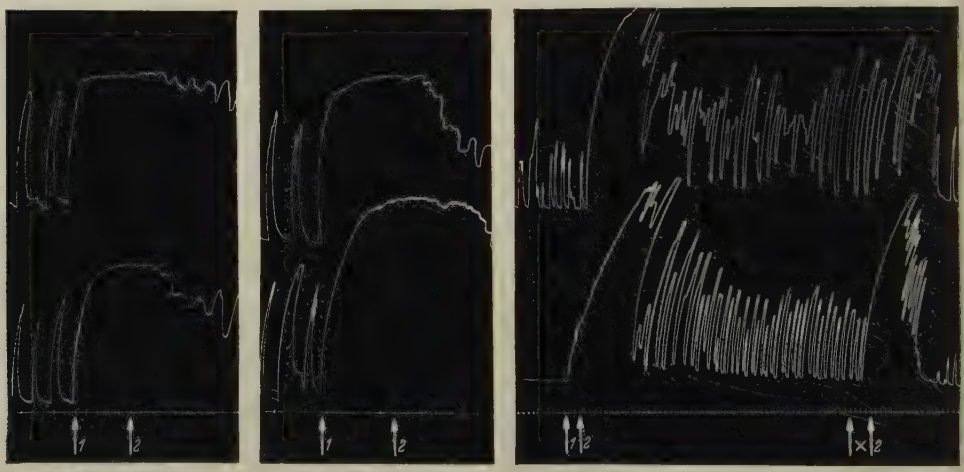


Abb. 7. Das Verhalten des Uterus normaler und nikotinbehandelter Ratten gegenüber der Einwirkung von Hypophysenhinterlappenextrakt. Oben: Kontrolltiere; unten: Versuchstiere. I = Uterus nach 90tägiger Einwirkung von täglich 25 γ Nikotin. II = Uterus nach 90tägiger Einwirkung von täglich 5 γ Nikotin. III = Uterus nach 40tägiger Einwirkung von täglich 50 γ Nikotin. Zeit in Minuten. 250 ccm Tyrode-Bad. Registrierung mit Doppelhebel. Bei ↑1 5 VE, bei ↑× 2 VE Hypophysenhinterlappenextrakt. Bei ↑2 Erneuerung der Badflüssigkeit.

B. Hoden.

Untersuchungen über den Einfluß von Nikotin auf die Struktur und Funktion des Hodens sind bisher an Hunden, Kaninchen, Meerschweinchen und Ratten ausgeführt worden. Aus der Vielzahl der Befunde seien hier einige angeführt.

S. Wright[16] fand bei Hunden, deren Futter täglich 0,1—0,3 g Tabak beigemischt war, ein allmähliches Nachlassen des Geschlechtstriebes, der schließlich vollständig aufhörte. Die Hoden der Tiere waren weich und zusammengeschrumpft. Verfütterung von Tabak oder Infusion von Nikotinlösungen in den Darm führen auch nach Petit[17] zu einer Verkleinerung des Hodens. Die Samenkanälchen waren dabei verschmälert, manchmal zart, manchmal induriert. Eine Verkleinerung des Hodens nach Nikotineinwirkung gibt auch Kosdoba an[18]. Depierris[19] fand in den Hoden eines Kaninchens, das mehrere Monate Tabakrauch ausgesetzt worden war, nur wenige, fast bewegungslose Samenzellen. Dagegen sollen nach den Beobachtungen von Gy[20] bei Kaninchen keine Veränderungen in den Hoden auftreten. In

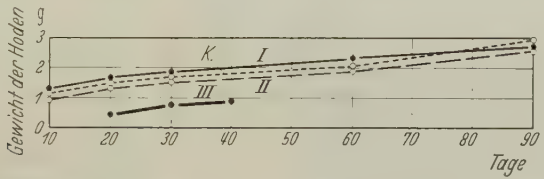


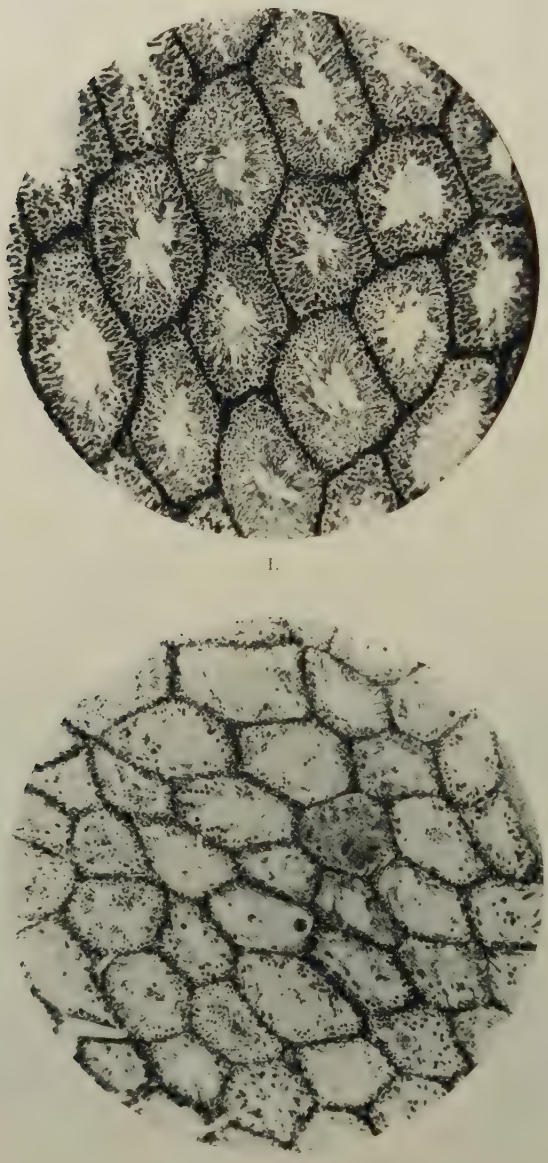
Abb. 8. Der Einfluß von Nikotin auf das Gewicht der Keimdrüsen männlicher Ratten.
Abszisse: Behandlungszeit in Tagen. Ordinate: Gewicht der Hoden in g. Kurve I entspricht den Mittelwerten der Versuchsgruppe Dosis I (Tagesmenge: 25 γ Nikotin), Kurve II den Mittelwerten der Versuchsgruppe Dosis II (Tagesmenge: 5 γ Nikotin), Kurve III den Mittelwerten der Versuchsgruppe Dosis III (Tagesmenge: 50 γ Nikotin) und Kurve *K* den Mittelwerten der unbehandelten Vergleichsgruppe.

kurzfristigen Versuchen konnte Hofstätter[21] bei Hunden, Meerschweinchen und Kaninchen starke Veränderungen des Hodens im Sinne einer Atrophie erzielen. Außerdem war die Geschlechtslust der Tiere weitgehend herabgesetzt. Wegen der verwendeten hohen Nikotinmengen (Gesamtdosis: 1,6—22,7 mg), dem kleinen Tiermaterial und der gleichzeitig auftretenden starken Allgemeinschädigung der Tiere werden die Ergebnisse Hofstätters jedoch mit Recht von Schinz und Slotopolsky[22] sowie Staemmler[23] der Kritik unterworfen. Auch Staemmler[24] stellte zwar in seinen eigenen Versuchen bei Ratten schwere Hodenatrophien fest, betont aber gleichzeitig, daß diese nicht mit Sicherheit auf den Einfluß des verabreichten Nikotins zurückgeführt werden können.

Wie aus den vorstehenden Angaben ersichtlich ist, sind diese nicht geeignet, ein klares Bild über den Einfluß des Nikotins auf die männliche Keimdrüse zu geben. Wir haben daher in eigenen Versuchen geprüft, wie sich der Hoden von Ratten gegenüber einer dauernden Nikotineinwirkung verhält.

[16] Wright, S.: Zit. nach Hofstätter: Virchows Arch. **244**, 205 (1923). — [17] Petit: Zit. nach Hofstätter: Ebenda **244**, 205 (1923). — [18] Kosdoba: Arch. klin. Chir. **156**, 555 (1930). — [19] Depierris: Zit. nach Bonne: Münch. med. Wschr. **1934**, S. 918. — [20] Gy: Zit. nach Hofstätter: Virchows Arch. **244**, 206 (1923). — [21] Hofstätter: Ebenda **244**, 183 (1923). — [22] Schinz u. Slotopolsky: Ebenda **253**, 413 (1924). — [23] Staemmler: Ebenda **295**, 387 (1935). — [24] Staemmler: Ebenda **295**, 388 (1935).

Die erste Feststellung war die, daß das Gewicht des Hodens nur bei den Tieren zurückbleibt, bei welchen auch das Körpergewicht im Vergleich zu den Kontrolltieren weniger zunimmt. Dieses war nur bei den Tiergruppen der Fall, die täglich 50 γ Nikotin (Dosis III) erhalten hatten. Diese Befunde entsprachen also den schon erwähnten Gewichtsveränderungen der weiblichen Keimdrüse. Während aber bei derselben Dosis die Ovarien keine pathologisch-anatomischen Veränderungen erkennen ließen, zeigten die Hoden eine deutliche Störung der Spermiogenese (Abbildung 9).



I.

II.

Abb. 9. Der Einfluß von Nikotin auf den Hoden der Ratte. I. Hoden einer normalen Ratte; II. Rattenhoden nach 20-tägiger Einwirkung von täglich 50 γ Nikotin (subc.). Fehlende Spermiogenese. Färbung: Hämatoxylin-Eosin. Vergr.: 42,5fach.

Bei normalen Ratten besteht der Hoden aus zahlreichen Samenkanälchen, die nur durch wenig Zwischengewebe voneinander getrennt sind. Die Samenkanälchen selbst bauen sich aus etwa 8 bis 12 Zellagen, welche die verschiedenen Formen der Samenbildungszellen enthalten, auf. Im Lumen der Kanälchen finden sich zahlreiche Samenfäden. Auch der Nebenhoden ist mit zahllosen Spermien angefüllt.

In den Hoden unserer Ratten, welche täglich 50 γ (Dosis III) Nikotin erhalten hatten, waren in den Samenkanälchen keine oder nur sehr wenige Sper-

mien vorhanden. Der Wandbelag der Kanälchen war niedrig und bestand nur aus 2—3 Zellschichten von unentwickelten Samenbildungszellen. In einzelnen Kanälchen waren die von Staemmler beschriebenen Riesenzellen anzutreffen[25]. Die Nebenhodenkanälchen waren leer. Bei weniger stark geschädigten Tieren lassen sich neben diesen Veränderungen noch Stellen mit erhaltener Spermiogenese nachweisen. Die Veränderungen fanden sich nur in den Hoden, welche ein auffallend niedriges Gewicht aufwiesen und waren schon am 20. Versuchstage voll ausgebildet. In gleicher Weise wie bei den Schilddrüsen waren auch hier zwischen Tieren, die 20 Tage und Tieren, die 40 Tage Nikotin erhalten hatten, keine Unterschiede im histologischen Bild der Hoden festzustellen. Diese Tatsache ist vermutlich auf eine Gewöhnung an das Nikotin zurückzuführen.

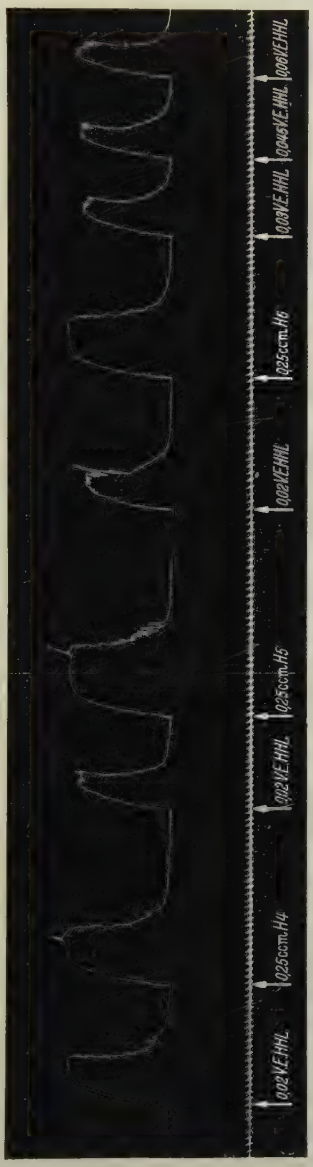


Abb. 10. Die Wirkung von Hypophysenextrakten (Gesamthypophyse) normaler und nikotinbehandelter weiblicher Ratten auf den isolierten Meerschweinchenuterus. Zeit in Minuten. 10 ccm Tyrode-Bad. VE HHL = Vögtlin-Einheiten Hypophysenhinterlappenextrakt-Standardpräparat. H_4 = Extrakt (1:1000) aus 9 Hypophysen von Tieren, die 60 Tage täglich 25 γ Nikotin subcutan erhalten hatten. H_5 = Extrakt (1:1000) aus 9 Hypophysen unbehandelter Vergleichstiere. H_6 = Extrakt (1:1000) aus 9 Hypophysen von Tieren, die 60 Tage täglich 5 γ Nikotin subcutan erhalten hatten.

Zu ähnlichen Ergebnissen wie wir kam auch Staemmler. Da er hochgradigere Veränderungen nur bei älteren Ratten fand, bei denen Hodenatrophien als Folge des Alterns physiologisch auftreten können, wagt er es nicht, die nachgewiesenen Veränderungen mit Sicherheit auf die Nikotineinwirkung zurückzuführen. Diese Einschränkung in der Beurteilung fällt bei unseren Versuchsergebnissen fort, da unsere Versuche nur an jugendlichen Tieren ausgeführt wurden.

Bei der Besprechung der Befunde an den weiblichen Keimdrüsen wurde bereits betont, daß ein Fehlen von anatomischen Veränderungen nichts darüber aussagt, ob nicht dennoch eine Beeinflussung oder gar Schädigung des Keimplasmas vorliegt. Diese Tatsache ist besonders im Hinblick auf die

[25] Staemmler: Virchows Arch. **295**, 389 (1935).

anatomisch negativen Befunde der mit Dosis I und Dosis II behandelten männlichen Ratten zu berücksichtigen. Auch diese Frage soll später eingehend erörtert werden.

3. Der Einfluß von Nikotin auf andere innersekretorische Drüsen.

In den Hypophysen von Ratten, welche Dosis I und II erhalten hatten, waren außer einer gelegentlich anzutreffenden stärkeren Durchblutung keine gröberen anatomischen Veränderungen zu erkennen. Nur die Zahl der eosinophilen Zellen erscheint im Vergleich zu den chromophoben Zellen etwas vermindert. Auch bei Dosis III war der Befund derselbe. Wie wir bereits erwähnt haben, war auch der Gehalt der Hypophyse an gonadotropem und thyreotropem Hormon bei Versuchs- und Kontrolltieren annähernd gleich. Dies gilt auch für die uteruswirksame Substanz. Wie die Abb. 10 zeigt, bestehen auch hier hinsichtlich der Wirksamkeit zwischen behandelten und unbehandelten Tieren keine gröberen Unterschiede.

Epithelkörperchen, Thymus und Nebennieren wiesen in keinem Falle Besonderheiten auf. Knotige Hyperplasien der Epithelzellen in der Marksubstanz der Nebenniere oder Adenome, wie sie von Staemmler[26] bei Ratten beobachtet worden sind, haben wir bei unseren Tieren nicht gefunden.

Im Pankreas waren Veränderungen nur bei den Tiergruppen der Dosis III nachzuweisen. Es handelt sich um herdförmige Nekrosen, welche vorwiegend im exkretorischen, vereinzelt aber auch im insulären Teil des Organs anzutreffen sind[27]. Sie kommen bei männlichen Tieren häufiger

Tabelle 6. Der Einfluß von Nikotin (subcutan) auf den Blutzucker von Ratten.

Unbehandelte Vergleichstiere			Versuchsgruppe I Tagesdosis: 25 γ			Versuchsgruppe II Tagesdosis: 5 γ			Versuchsgruppe III Tagesdosis: 50 γ		
Zahl der Tiere	Versuchszeit in Tagen	Blutzucker in mg% (Mittelwert)	Zahl der Tiere	Versuchszeit in Tagen	Blutzucker in mg% (Mittelwert)	Zahl der Tiere	Versuchszeit in Tagen	Blutzucker in mg% (Mittelwert)	Zahl der Tiere	Versuchszeit in Tagen	Blutzucker in mg% (Mittelwert)
					Weibliche Ratten.						
5	10	101,6	5	10	101,2	5	10	120,4	—	—	—
5	20	114,4	5	20	109,2	5	20	110,4	5	20	92,8
5	30	107,0	5	30	102,8	4	30	101,2	5	30	93,4
5	60	96,2	4	60	101,7	5	60	116,2	5	40	95,8
4	90	101,2	5	90	102,2	5	90	82,6	—	—	—
					Männliche Ratten.						
5	10	115,4	5	10	127,6	5	10	101,8	—	—	—
5	20	109,4	5	20	110,4	5	20	108,4	5	20	77,4
5	30	79,2	5	30	99,8	5	30	90,4	6	30	95,5
5	60	91,2	4	60	97,2	4	60	102.7	5	40	93,2
5	90	83,2	5	90	92,8	5	90	93,8	—	—	—

[26] Staemmler: Virchows Arch. **295**, 371 (1935). — [27] Siehe auch Soomann: Zit. nach Lickint, S. 752.

vor als bei weiblichen. An dieser Stelle möchten wir auf einen Hinweis von Frühauf[28], welcher eine Erhöhung der Zuckerausscheidung bei Diabetikern nach Nikotingenuß bemerkte, aufmerksam machen. In unseren

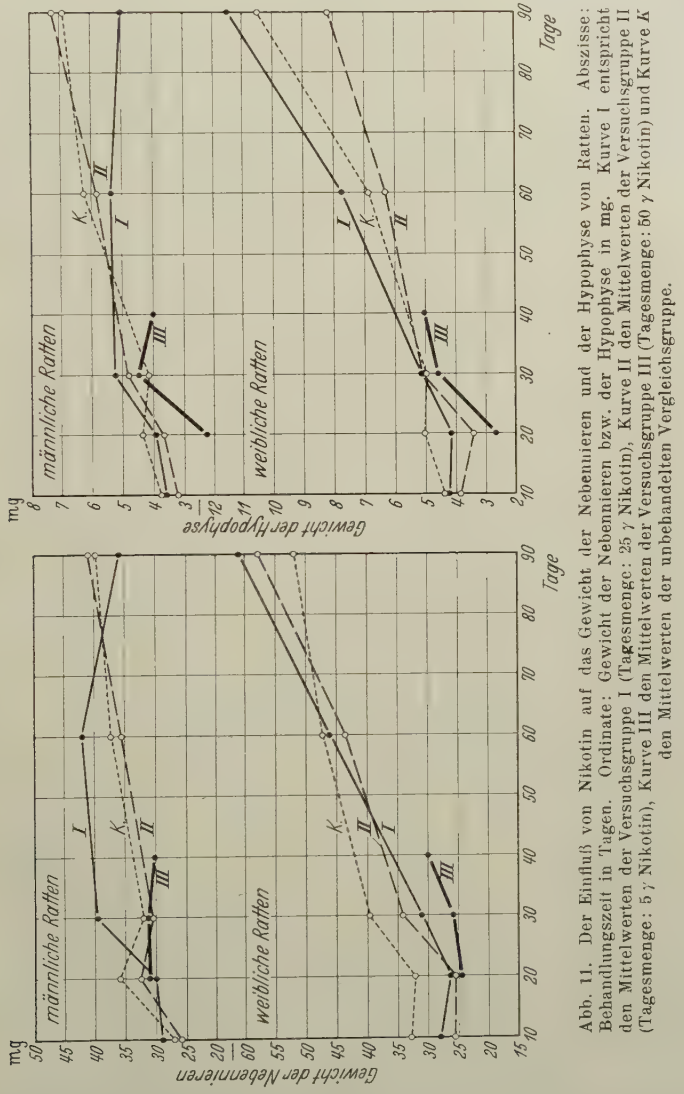


Abb. 11. Der Einfluß von Nikotin auf das Gewicht der Nebennieren und der Hypophyse von Ratten. Abszisse: Behandlungszeit in Tagen. Ordinate: Gewicht der Nebennieren bzw. der Hypophyse in mg. Kurve I entspricht den Mittelwerten der Versuchsgruppe I (Tagesmenge: 25 γ Nikotin), Kurve II den Mittelwerten der Versuchsgruppe II (Tagesmenge: 5 γ Nikotin), Kurve III den Mittelwerten der Versuchsgruppe III (Tagesmenge: 50 γ Nikotin) und Kurve K den Mittelwerten der unbehandelten Vergleichsgruppe.

Versuchen lagen die Blutzuckerwerte aller Versuchsgruppen (Dosis I, II und III) innerhalb normaler Grenzen.

Über das Verhalten des Gewichts der Hypophyse und der Nebennieren unterrichtet Abb. 11.

[28] Frühauf: Hippokrates 1936, S. 455.

IV. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Wie wir bereits eingangs dargelegt haben, sind wir bei unseren Untersuchungen zunächst von der Frage ausgegangen, ob die von klinischer Seite beobachteten Störungen der Ovarialtätigkeit nach Nikotingenuß eine direkte Folge der Nikotineinwirkung auf das Ovarium darstellen oder ob diese Störungen sekundär durch Veränderungen der Schilddrüsentätigkeit bedingt sind. Anatomisch sind im Ovarium bei keiner der angewendeten Nikotinmengen Veränderungen nachzuweisen, welche auf eine Beeinflussung der weiblichen Keimdrüsen durch Nikotin schließen lassen. Das anatomische Aussehen eines Organs vermittelt uns jedoch lediglich Veränderungen der Struktur, während es uns über den Ablauf der Funktionen nur unvollständig aufzuklären vermag. Ebenso können bekanntlich Störungen der Funktion auftreten, ohne daß die Struktur sichtbar verändert wird. Auch in unseren Versuchen lassen sich trotz des Fehlens anatomischer Strukturveränderungen Störungen der Ovarialfunktionen nachweisen. Diese Störungen bestehen in einem unregelmäßigen Ablauf des Scheidenzyklus. Bei einzelnen Tieren tritt dieser gehäuft auf, bei anderen seltener als bei normalen Tieren, bei einigen wenigen Tieren ist der Scheidenzyklus regelmäßig. Für das Auftreten der Unregelmäßigkeiten im Scheidenzyklus als Ausdruck einer gestörten Ovarialfunktion sind verschiedene Ursachen denkbar. Zunächst könnten diese Störungen auf eine Beeinflussung des übergeordneten Organs, in diesem Falle des Hypophysenvorderlappens, durch Nikotin zurückgehen. Eine derartige Veränderung der Hypophysentätigkeit läßt sich jedoch auf Grund der mitgeteilten Befunde nicht feststellen. Trotz der nachgewiesenen normalen Hypophysenfunktion besteht jedoch weiterhin die Möglichkeit, daß Störungen der Ovarialtätigkeit schon allein durch eine Herabsetzung oder Steigerung der Empfindlichkeit des Ovariums gegenüber den gonadotropen Wirkstoffen bedingt sind. Dies ist, wie wir zeigen konnten, zum Beispiel bei Störungen der Schilddrüsenfunktion der Fall[29]. Da die Schilddrüse als einziges Organ bereits durch Nikotinmengen (Dosis I und II) verändert wird, die keine Allgemeinschädigungen des Organismus verursachen, liegt es nahe, die beobachteten Funktionsstörungen im Ovarium auf eine veränderte Tätigkeit dieses Organs zu beziehen. Daneben besteht aber auch noch die Möglichkeit, daß Nikotin schon von sich aus die Empfindlichkeit des Ovariums für die gonadotropen Wirkstoffe der Hypophyse auf direktem Wege beeinflußt. Wir möchten an dieser Stelle ausdrücklich darauf hinweisen, daß viele Stoffe, wie wir es vom Thyroxin her kennen, nicht immer auf dem Wege über ein übergeordnetes Organ die Tätigkeit innersekretorischer Drüsen beeinflussen. Sie wirken vielmehr auch auf endokrine Drüsen ein, indem sie die Ansprechbarkeit dieser Drüsen gegenüber den entsprechenden übergeordneten spezifischen Reizen herabsetzen oder steigern.

[29] Grumbrecht u. Loeser: Klin. Wschr. **1939**, S. 1018.

Während das anatomische Bild des Hodens bei den Versuchsgruppen der Dosis I und II (5 und 25 γ) keine Besonderheiten zeigt, ändert sich dieses Verhalten grundsätzlich bei höherer Dosierung (Dosis III. 50 γ). Hier treten schwere degenerative Veränderungen im Hoden auf. Wie wir bereits erwähnten, finden sich im Gegensatz zu den Befunden am männlichen Tier bei dieser Dosierung an der weiblichen Keimdrüse keinerlei strukturelle Veränderungen. Es ergibt sich somit die Tatsache, daß sich das Nikotin hinsichtlich der Keimdrüsen bei beiden Geschlechtern verschieden auswirkt, obwohl die Allgemeinwirkungen (degenerative Veränderungen in Pankreas und Herz) bei dieser Dosis dieselben sind.

Eine gewisse Erklärung für dieses unterschiedliche Verhalten ergibt sich aus folgender Überlegung:

In der weiblichen Keimdrüse hört bekanntlich die Bildung neuer Eizellen mit der Geburt auf. Im Gegensatz dazu werden im Hoden während der ganzen Fortpflanzungszeit ständig neue Samenzellen gebildet. Diese rege Zellteilungstätigkeit sowie die bekannte Empfindlichkeit in Teilung begriffener Zellen gegenüber Giften stellt vermutlich die Ursache dafür dar, daß sich gerade im Hoden degenerative Veränderungen nach Nikotineinwirkung im Gegensatz zum Ovarium ausbilden. Die Frage, ob diese Schädigung Ausdruck einer direkten Nikotineinwirkung auf den Hoden ist, oder nur eine Folge der allgemeinen Körperschädigung durch Nikotin darstellt, ist dabei von untergeordneter Bedeutung. In unseren Versuchen traten Hodenveränderungen ohne gleichzeitige Schädigung des Allgemeinzustandes nie auf.

Die verschiedene Empfindlichkeit männlicher und weiblicher Tiere gegenüber Nikotin beruht nicht, wie Yun und Lee[30] angenommen haben, auf der Abschwächung der Nikotinwirkung durch Corpus luteum-Hormon bei weiblichen Tieren. Wenn diese Annahme zutreffen würde, so müßte zu erwarten sein, daß geschlechtsreife kastrierte weibliche Tiere nikotinempfindlicher sind als nicht kastrierte geschlechtsreife Ratten. Dies konnten wir nicht feststellen. Ebenso konnten wir bei männlichen Ratten, die außer der täglichen Nikotinmenge von 50 γ täglich 12 bzw. 1200 i. B. E. Oestradiolmonobenzoat erhielten, keine Steigerung der Giftwirkung nachweisen, wie sie von Yun und Lee gefordert wird. Die Hoden waren ebenso wie bei den Tieren, welche nur mit Nikotin behandelt wurden, verändert.

Wir haben bereits mehrfach darauf hingewiesen, daß das Fehlen anatomischer Veränderungen in den Keimdrüsen keinen Beweis dafür darstellt, daß Schädigungen des empfindlichsten Teiles der Generationsorgane, des Keimplasmas, nicht dennoch vorhanden sein können. Eine derartige Schädigung läßt sich aber nur im Vererbungsversuch nachweisen, über den später in einer besonderen Arbeit berichtet werden soll.

[30] Yun u. Lee: Zit. nach Lickint, S. 206.

Zusammenfassung.

Es wird der Einfluß dauernder Nikotineinwirkung auf das innersekretorische System bei Ratten untersucht.

Kleine Nikotinmengen (5 und 25 γ) rufen bei beiden Geschlechtern keine Schädigungen des Allgemeinzustandes hervor und verursachen keine sichtbaren anatomischen Veränderungen in den Keimdrüsen. Dennoch lassen sich feinere Funktionsstörungen im Ablauf der Eireifungsvorgänge nachweisen, welche sich als Unregelmäßigkeiten im Brunstzyklus äußern.

Die gleichzeitig vorhandenen strukturellen Veränderungen in der Schilddrüse machen ursächliche Beziehungen zu dem Auftreten der beschriebenen Störungen der Ovarialfunktionen wahrscheinlich.

Größere Nikotinmengen (50 γ) schädigen bei männlichen und weiblichen Tieren den Allgemeinzustand. In den weiblichen Keimdrüsen treten wie bei den niedrigen Dosen keine anatomischen Veränderungen auf. In den männlichen Keimdrüsen findet sich das Bild der Hodenatrophie. Die Gründe für das unterschiedliche Verhalten der männlichen und weiblichen Geschlechtsdrüsen werden erörtert.

Außer der männlichen Keimdrüse und der Schilddrüse wird nur noch das Pankreas geschädigt. Diese Schädigung findet sich bei beiden Geschlechtern und wird nur nach Verabreichung größerer Nikotinmengen (50 γ) beobachtet.

Bei mehreren Tieren der Dosis III (50 γ) traten degenerative Herzveränderungen auf.

Die Untersuchungen wurden mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Freiburger Wissenschaftlichen Gesellschaft ausgeführt.

Aus dem Pharmakologischen Institut (Direktor: Prof. S. Janssen) und der Frauenklinik (Direktor: Prof. F. Siegert) der Universität Freiburg i. Br.

Nikotin und innere Sekretion.

II. Arbeitsschäden der Frau in Tabakfabriken?

Von

Paul Grumbrecht und **Arnold Loeser**

Frauenklinik Pharmakologisches Institut

(Nach statistischen Erhebungen von cand. med. M. Breuer und cand. med. C. Hennes.)

(Eingegangen am 5. März 1940.)

I. Einleitung.

Im ersten Teil unserer Untersuchungen über die Folgen dauernder Nikotineinwirkung auf innersekretorische Organe konnten wir nachweisen, daß bei weiblichen Tieren von allen innersekretorischen Drüsen Keimdrüse und Schilddrüse am empfindlichsten auf Nikotin reagieren[1]. So ließ sich zeigen, daß schon kleine Nikotinmengen (5 und 25 γ) ohne Schädigung des Allgemeinzustandes und ohne sichtbare anatomische Veränderungen im Ovarium dennoch Funktionsstörungen in diesem Organ verursachen: Der Ablauf der Eireifungsvorgänge ist verändert, der Scheidenzyklus wird unregelmäßig. Da bei diesen Dosen die Schilddrüse als einziges innersekretorisches Organ durch Nikotin verändert wird, ferner anatomische Schilddrüsenveränderungen und funktionelle Störungen im Ovarium zeitlich zusammenfallen, haben wir geschlossen, daß zwischen beiden Vorgängen ursächliche Beziehungen bestehen können. Die Annahme eines derartigen Zusammenhanges ist deshalb berechtigt, weil bekannt ist, daß Schilddrüsenstoffe den Ablauf der Eireifungsvorgänge weitgehend beeinflussen[2].

Beim Menschen liegen ebenfalls Beobachtungen vor, die darauf hinweisen, daß auch bei der Frau Keimdrüse und Schilddrüse gegenüber Nikotin besonders empfindlich sind[3]. In Übereinstimmung mit den Tierversuchen geben nämlich fast alle Untersucher an, daß bei der Frau ohne Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens Periodenstörungen auftreten, die als Ausdruck einer veränderten Ovarialtätigkeit gedeutet werden. Ebenso wurde beobachtet, daß Nikotinabusus Funktionsstörungen der Schilddrüse verursachen kann. Gerade die zuletzt aufgeführte Tatsache läßt vermuten,

[1] Erbacher, Grumbrecht, A. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch., **195**, 121 (1940). — [2] Grumbrecht u. Loeser: Ebenda **192**, 202 (1939); Klin. Wschr. **1939**, S. 1018. — [3] Literatur siehe Erbacher, Grumbrecht, A. Loeser: l. c.

daß auch beim Menschen zwischen dem Auftreten von Menstruationsstörungen und der besonderen Empfindlichkeit der Schilddrüse gegenüber Nikotin Zusammenhänge bestehen.

Zur Prüfung dieser Frage haben wir bei Tabakarbeiterinnen untersucht, ob erstens Menstruationsstörungen gehäuft vorkommen und zweitens inwieweit sich als Ursache dieser Störungen Veränderungen der Schilddrüsentätigkeit feststellen lassen. Da der Tabakstaub, mit dem die Arbeiterinnen in Tabakfabriken täglich in Berührung kommen, 0.56—0.76% Nikotin enthält[4], ist eine chronische Nikotinvergiftung durchaus möglich. Die Aufnahme des Giftes findet dabei in erster Linie durch Inhalation des Staubes oder durch Einatmung von freiem Nikotin statt, das sich aus den getrockneten Tabakblättern verflüchtigt und in der Luft der Arbeitsräume ansammelt. Die Menge des Staubes ist je nach der Art der Arbeit verschieden und ist abhängig von der Ventilation und Reinhaltung der Arbeitsräume. Pro cbm Luft wurden in Zigarrenfabriken 19—122 mg Tabakstaub nachgewiesen[5].

Es liegen zahlreiche Arbeiten vor, in denen über Arbeitsschäden der Frau in Tabakfabriken berichtet wird[6]. An erster Stelle werden dabei immer Störungen der Genitalfunktionen genannt. Aufgeführt werden: Verzögerter Eintritt der Menarche, Menstruationsstörungen, Dysmenorrhoen, Störungen der Fruchtbarkeit, Unterbrechung der Schwangerschaft, erhöhte Sterblichkeit und Anfälligkeit der Neugeborenen u. a. m. Von Neiding[7] wurden außerdem auch auffallend häufig Veränderungen der Schilddrüsentätigkeit beobachtet. Diese stellten sich erst nach dem Eintreten in die Fabrik ein, und waren bei Frauen häufiger anzutreffen als bei Männern (36 Arbeiterinnen und 13 Arbeiter). Sie äußerten sich als Tachykardie, Tremor, Auftreten von Augensymptomen, Neigung zum Schwitzen, Abmagerung und allgemeine Schwäche. In manchen Fällen war die Schilddrüse mäßig vergrößert, in anderen nicht. Bei der Beurteilung dieser Befunde muß allerdings darauf hingewiesen werden, daß die von Neidung untersuchten Personen mit 4 Ausnahmen bereits längere Zeit starke Raucher waren.

Für das Auftreten der beschriebenen Erscheinungen wird von fast allen Autoren das Nikotin verantwortlich gemacht. Der Beweis, daß tatsächlich das Nikotin die alleinige Ursache derartiger Störungen darstellt, kann nur dann mit Sicherheit geliefert werden, wenn es sich zeigen läßt, daß die erwähnten Schädigungen nur bei solchen Menschen entstehen, die dauernd

[4] Nach Heucke u. H. Groß: Zit. in Lickint: Tabak und Organismus, S. 950. Stuttgart, Hippokrates-Verlag, 1939. — [5] Nach Hahn, R. Staehelin, Heucke: Zit. in Lickint, S. 949. — [6] Thiele: Vjschr. gerichtl. Med. u. öff. San.wes. **45**, 180, 373 (1913); Neiding, A.: Dtsch. Z. Nervenhk. **81**, 272 (1924); Deiss, K.: Gewerbliche Arbeit in der Tabakindustrie. Diss. Gießen 1924; Unbehaun, G.: Arch. Frauenk. u. Konstit.-forsch. **14**, 344 (1928) (126 Tabakarbeiterinnen); Klein, S. M.: Ebenda **17**, 30 (1931) (138 Tabakarbeiterinnen); weitere Literatur siehe: Lickint: l. c., S. 793 u. 795. — [7] Neiding, A.: l. c.

berufsmäßig mit Tabak umgehen. Die vorliegenden Statistiken geben hierüber jedoch keinen Aufschluß. Diejenigen Autoren, die vereinzelt Vergleichsuntersuchungen angestellt haben, zogen zu diesen Vergleichen wahllos Frauen der verschiedensten Berufe heran[8]. Um überhaupt Vergleiche ziehen zu können, ist es unseres Erachtens zunächst erforderlich, möglichst gleiche Bedingungen einzuhalten. Als solche sind in erster Linie zu nennen: Fabriken der gleichen Gegend, weitgehende Übereinstimmung hinsichtlich Zeit und Schwere der Arbeit, Berücksichtigung des Lebensalters der Arbeiterinnen sowie der Beschäftigungsdauer. Diese Forderungen müssen deshalb gestellt werden, weil wir heute wissen, daß gerade Ovarium und Schilddrüse zu den Organen zählen, die besonders leicht auf Reize jeder Art reagieren[9]. So ist beispielsweise bekannt, daß Menstruationsstörungen schon allein durch klimatische Einflüsse, Änderungen der Lebensbedingungen, Änderungen der Arbeitsweise (z. B. Landjahramenorrhoe), Störungen der Schilddrüsenfunktion u. a. ausgelöst werden können.

Unter Berücksichtigung der erwähnten Bedingungen haben wir daher in eigenen Untersuchungen geprüft, ob bei Arbeiterinnen in Tabakfabriken häufiger Störungen der Schilddrüsen- und Ovarialfunktion auftreten als dies beispielsweise bei Textilarbeiterinnen der Fall ist.

II. Das Auftreten von Störungen der Schilddrüsen- und Ovarialfunktion bei Fabrikarbeiterinnen.

Alle Untersuchungen erfolgten in Räumen der einzelnen Fabriken und bestanden in sorgfältiger Aufnahme der Anamnese und Aufzeichnung der angegebenen Klagen. Um möglichst glaubwürdige Angaben zu erhalten, wurde nicht nach bestimmten Beschwerden, insbesondere von Seiten der Schilddrüse, sondern zunächst nur nach dem allgemeinen gesundheitlichen Befinden gefragt. Erst wenn die Befragten daraufhin besondere Beschwerden angaben, gingen wir diesen nach.

Über die Einrichtung der Betriebe und die Art der Arbeit, welche die untersuchten Frauen auszuführen hatten, sei kurz folgendes erwähnt:

Die in der Nähe der Stadt Freiburg gelegenen Tabakfabriken sind mittelgroße Unternehmen, die über hohe, helle, künstlich entlüftete Arbeitsräume verfügen und ausschließlich Zigarren und Stumpen herstellen. Die Arbeit der Frauen besteht im Wickeln der Zigarren, Rollen und Kleben der Deckblätter, Aussortieren der Ware sowie Verpackung der fertigen Zigarren und Stumpen. Die Arbeit wird fast ausschließlich sitzend als Akkordarbeit verrichtet. In den verschiedenen Arbeitsräumen waren jeweils 35—70 Frauen beschäftigt. Besondere Vorrichtungen zur Entfernung des Tabakstaubes waren über den einzelnen Arbeitsplätzen nicht vorhanden. Der Fußbodenbelag bestand aus Holz.

Die in der Stadt Freiburg gelegene Textilfabrik (Garnspinnerei) beschäftigt etwa 1200 Arbeiter, darunter fast 800 Frauen. Die Arbeitsräume, in denen durchschnittlich 100 Personen arbeiten, werden künstlich entlüftet. Die Mehrzahl der

[8] Unbehaun, G.: l. c. — [9] Grumbrecht u. A. Loeser: Klin. Wschr. **1939**, S. 1018.

Frauen verrichtet ihre Arbeit im Stehen als Akkordarbeit. Im Gegensatz zu der Handarbeit in den Tabakfabriken handelt es sich hier vorwiegend um maschinelle Arbeit.

Es wurden insgesamt 280 Tabak- und 472 Textilarbeiterinnen untersucht. Der Ernährungszustand der Frauen war allgemein als gut zu bezeichnen. Raucherinnen fanden sich unter den Tabakarbeiterinnen keine. Von den Textilarbeiterinnen gaben einige an, gelegentlich zu rauchen. Über das Alter der in den einzelnen Fabriken beschäftigten Frauen gibt Tabelle 1 Aufschluß. Sie zeigt, daß die Mehrzahl der Frauen im Alter von 17—35 Jahren war, d. h. in dem Lebensabschnitt stand, in welchem gerade Keimdrüsen und Schilddrüse den größten Belastungen ausgesetzt sind.

Tabelle 1. Altersverteilung der untersuchten Arbeiterinnen.

Alter	Tabakarbeiterinnen		Textilarbeiterinnen	
	Anzahl	%	Anzahl	%
von 14—16 Jahren	26	9,3	—	—
„ 17—19 „	51	18,2	39	8,3
„ 20—25 „	52	18,6	75	15,8
„ 26—30 „	55	19,6	117	24,8
„ 31—35 „	22	7,6	118	25,0
„ 36—40 „	24	8,6	50	10,5
„ 41—45 „	20	7,1	27	5,9
„ 46—50 „	9	3,2	22	4,7
über 50 Jahre	21	7,5	24	5,0

Die Beschäftigungsdauer der Tabak- und Textilarbeiterinnen ist aus der nachstehenden Tabelle 2 ersichtlich.

Tabelle 2. Beschäftigungsdauer der untersuchten Arbeiterinnen.

Dauer der Fabrikarbeit	Tabakarbeiterinnen		Textilarbeiterinnen	
	Anzahl	%	Anzahl	%
von 0— 2 Jahren	63	22,5	121	25,6
„ 3— 5 „	59	21,1	73	15,5
„ 6—10 „	67	23,9	131	27,8
„ 11—15 „	46	16,4	96	20,3
„ 16—20 „	16	5,7	30	6,4
„ 21—25 „	6	2,2	7	1,5
„ 26—30 „	13	4,6	11	2,3
„ 31—35 „	5	1,8	1	0,2
„ 36—40 „	1	0,4	—	—
über 40 Jahre	4	1,4	2	0,4

Wie wir bereits ausführten, soll die Menarche bei Tabakarbeiterinnen oft verspätet eintreten. Diese Angaben können wir in unseren Untersuchungen nicht bestätigen. Vergleicht man nämlich den Eintritt der Menarche bei Tabak- und Textilarbeiterinnen miteinander, dann ergibt

sich zunächst, daß auffallend viele Arbeiterinnen erst nach dem 16. Lebensjahre zum ersten Male menstruieren. Dabei läßt sich jedoch nicht feststellen, daß diese Störung nur bei der Tabakarbeiterin auftritt. Sie findet sich vielmehr auch bei der Textilarbeiterin und ist, wie Tabelle 3 zeigt, bei dieser sogar doppelt so häufig anzutreffen. Schon hieraus ist zu ersehen, daß diese Störungen der Menarche nicht ohne weiteres auf das Nikotin bezogen werden dürfen. Bei der Beurteilung muß vielmehr auch der Einfluß der Fabrikarbeit als solche berücksichtigt werden. Wie groß der Einfluß körperlicher Arbeit auf die Entwicklung der Frau überhaupt ist, geht aus der in Tabelle 3 aufgeführten Gegenüberstellung von körperlich arbeitenden und nicht körperlich arbeitenden Frauen (Studentinnen der ersten Semester) hervor. Während die Menarche bei den letzteren in 99 % der Fälle vor dem 16. Lebensjahr eintritt, betragen die Zahlen bei den Tabakarbeiterinnen 88,9 %, bei den Textilarbeiterinnen sogar nur 76,4 %.

Tabelle 3. Lebensalter beim Erscheinen der Menarche.

Eintritt der Menarche	Tabakarbeiterinnen		Textilarbeiterinnen		Studentinnen*	
	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%
bis 12 Jahre	22	7,9	41	8,4	49	24,8
mit 13 Jahren	79	28,2	74	15,7	58	29,3
„ 14 „	67	23,9	90	20,1	64	32,3
„ 15 „	47	16,8	74	15,7	21	10,6
„ 16 „	34	12,1	76	16,5	4	2,0
„ 17 „	16	5,7	69	13,7	—	—
„ 18 „	9	3,2	35	7,1	2	1,0
„ 19 „	3	1,1	9	2,0	—	—
„ 20 „ und darüber	3	1,1	4	0,8	—	—

* Die Angaben beziehen sich auf 198 Studentinnen.

Betrachtet man unter den oben erwähnten Gesichtspunkten auch die anderen Störungen der Ovarialfunktionen sowie Abweichungen der Schilddrüsentätigkeit, wie sie als Nikotinwirkung beschrieben worden sind, dann ergibt sich folgendes:

1. Störungen der Menstruation.

Wie Tabelle 4 zeigt, bestehen hinsichtlich Dauer, Stärke und Regelmäßigkeit der Menstruation bei Tabak- und Textilarbeiterinnen keine wesentlichen Unterschiede. Von 280 Tabakarbeiterinnen menstruierten 242 = 86,4 % regelmäßig, von 472 Textilarbeiterinnen 388 = 82,2 %. Abweichungen der Menstruation zeigten unter den Tabakarbeiterinnen 38 Frauen oder 13,5 %, bei den Textilarbeiterinnen 84 Frauen oder 17,8 %. Von diesen Störungen äußerten sich bei den Tabakarbeiterinnen 7 Fälle als Polymenorrhoe, 5 Fälle als Oligomenorrhoe, 1 Fall als Amenorrhoe und 25 Fälle als Metrorrhagien. Bei den Textilarbeiterinnen betragen die Zahlen

für die Polymenorrhoe 28, für die Oligomenorrhoe 11, für die Amenorrhoe I und für die Metrorrhagie 44.

Berücksichtigt man bei den nachgewiesenen Unregelmäßigkeiten nur diejenigen, bei denen sich einerseits keine bekannte Ursache, beispielsweise voraufgegangene Geburten oder Fehlgeburten, feststellen ließ, und scheidet andererseits die Fälle, bei welchen Unregelmäßigkeiten schon vor Eintritt in die Fabrik bestanden hatten aus, dann bleiben als durch Fabrikarbeit bedingte Schädigungen bei den Tabakarbeiterinnen 21 = 7,5%, bei den Textilarbeiterinnen 36 = 7,6% bestehen. Besonders hervorgehoben werden muß noch, daß sich bei der Mehrzahl dieser Frauen die Unregelmäßigkeiten immer in den ersten Jahren der Fabrikarbeit einstellten. Nach den Angaben von Krüger, Rostoski und Saupe[10] ließ sich in Zigarettenfabriken kein gehäuftes Auftreten von Menstruationsstörungen feststellen. Aus ihren Befunden schließen die Autoren, daß auch durch Arbeit in Zigarettenfabriken die Entstehung von Erkrankungen der weiblichen Genitalorgane nicht begünstigt wird.

Was Störungen der Schwangerschaften und der Fortpflanzungsfähigkeit anbelangt, so überwiegt die Zahl der angegebenen Aborte bei der Tabakarbeiterin keineswegs die bei der Textilarbeiterin. Die durchschnittliche Kinderzahl war bei der Tabakarbeiterin fast doppelt so groß wie bei der Textilarbeiterin. Schließlich sei noch erwähnt, daß Tabakarbeiterinnen häufiger über dysmenorrhoeische Beschwerden klagten als Textilarbeiterinnen.

Tabelle 4. Menstruationsstörungen bei Fabrikarbeiterinnen.

a) Dauer der Intervalle.

Intervall in Tagen	Dauer in Tagen	Tabakarbeiterinnen		Textilarbeiterinnen	
		Anzahl	%	Anzahl	%
21—35 Tage regelmäßig....	4—8	166	59,3	269	57,0
	<4	76	27,1	110	23,3
	>8	—	—	9	1,9
Unter 21 Tage regelmäßig..	4—8	5	1,8	18	3,9
	<4	2	0,7	9	1,9
	>8	—	—	1	0,2
Über 35 Tage regelmäßig...	4—8	4	1,4	9	1,9
	<4	1	0,4	2	0,4
	>8	—	—	—	—
Über 3 Monate (Amenorrhoe)	—	1	0,4	1	0,2
Unregelmäßig 2—3—5—6—8 Wochen (Metrorrhagie)	—	25	8,9	44	9,3

[10] Krüger, Rostoski, Saupe: Z. Klin. Med. **107**, 375 (1928).

b) Art der Blutung.

Intervall in Tagen	Dauer in Tagen	Tabakarbeiterinnen						Textilarbeiterinnen					
		Anzahl			%			Anzahl			%		
		st.	m.	sch.	st.	m.	sch.	st.	m.	sch.	st.	m.	sch.
21—35 Tage regelmäßig	4—8	22	143	1	7,8	51.1	0,4	71	188	8	15,2	39,83	1,7
	<4	6	66	4	2,1	23,6	1,4	11	69	32	2,3	14,7	6,7
	>8	—	—	—	—	—	—	8	1	—	1,7	0,2	—
Unter 21 Tage regelmäßig (Polymenorrhoe)	4—8	3	2	—	1,1	0,7	—	9	9	—	1,9	1,9	—
	<4	—	2	—	—	0,7	—	—	4	5	—	0,8	1,0
	>8	—	—	—	—	—	—	1	—	—	0,2	—	—
Über 35 Tage regelmäßig (Oligomenorrhoe)	4—8	2	2	—	0,7	0,7	—	4	5	—	0,8	1,0	—
	<4	—	1	—	—	0,4	—	—	1	1	—	0,2	0,2
	>8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Über 3 Monate (Amenorrhoe)		—	—	—	—	—	—	1	—	—	0,2	—	—
Unregelmäßig 2—3—5—6—8 Wochen (Metrorrhagie)		5	20	—	1.8	7,1	—	20	19	5	4,3	4,0	1,0

Zeichenerklärung: st. = stark, m. = mittelstark, sch. = schwach.

Bei den Tabakarbeiterinnen blieb ein Fall von Amenorrhoe bei der Berechnung unberücksichtigt.

2. Störungen der Schilddrüsentätigkeit.

Im Gegensatz zu Menstruationsstörungen sind Abweichungen der Schilddrüsenfunktion von der Norm bekanntlich nur schwer zu erfassen. Während das Symptomenbild des echten Morbus Basedow unverkennbar ist, bereitet die Diagnose einer Hyperthyreose in weniger ausgeprägten Fällen erfahrungsgemäß die größten Schwierigkeiten. Der Grund hierfür liegt darin, daß die Symptome einer leichten Thyreotoxikose uncharakteristisch sind. Viele dieser Erscheinungen, wie leichte Ermüdbarkeit, Neigung zum Schwitzen, leichte Erregbarkeit, mäßige Tachycardie, Abnahme des Körpergewichts u. a. m. können auch schon durch unspezifische Einflüsse, beispielsweise Überarbeitung, Übermüdung, mangelnder Schlaf entstehen und das Bild einer Hyperthyreose vortäuschen. Noch schwieriger ist es natürlich, das Vorliegen einer Hypothyreose — zudem ohne zur Verfügung stehende klinische Hilfsmittel — auf Grund klinischer Symptome zu erkennen.

Erscheinungen, die zunächst auf eine Störung der Schilddrüsentätigkeit hinzuweisen schienen, ließen sich bei vielen der untersuchten Arbeiterinnen feststellen. Ging man aber den Ursachen dieser Symptome näher nach, dann ergab sich, daß dieselben fast ausnahmslos die Folgen einer Überarbeitung darstellten. Es muß nämlich an dieser Stelle darauf aufmerksam gemacht werden, daß es sich bei der Mehrzahl der Tabak- und Textilarbeiterinnen um Frauen handelt, die neben der Fabrikarbeit noch ihren Haushalt mit Kindern zu versorgen haben. Viele müssen außerdem die oft große Entfernung

bis zur Arbeitsstätte mit dem Fahrrad zurücklegen. Infolge des frühzeitigen Arbeitsbeginns und der nach Arbeitsschluß noch zu leistenden Hausarbeit ist der nächtliche Schlaf oft sehr kurz. An den freien Tagen fehlt zudem die notwendige Ruhe und Entspannung, da jetzt die während der Woche liegengebliebene häusliche Arbeit nachgeholt werden muß.

Berücksichtigt man bei der Beantwortung der Frage nach dem Auftreten von echten Schilddrüsenstörungen bei Tabakarbeiterinnen nur solche Fälle, bei denen die sicheren Zeichen einer Hyper- oder Hypothyreose vorlagen, dann finden sich unter allen untersuchten Frauen nur drei Fälle (1,07%), bei denen eine Hyperthyreose bestand. Bei den Textilarbeiterinnen war ein Fall (0,21%) einer ausgesprochenen Hyperthyreose festzustellen. Hypothyreosen haben wir bei beiden Berufsgruppen nie gesehen.

III. Besprechung der Ergebnisse.

Wenn wir zunächst auf die Frage eingehen, inwieweit Menstruationsstörungen bei Tabakarbeiterinnen gehäuft auftreten, so läßt sich auf Grund der erhaltenen Untersuchungsergebnisse eindeutig nachweisen, daß derartige Störungen zwar oft zu beobachten sind, sich jedoch ebenso häufig bei Textilarbeiterinnen finden. Daraus folgt also, daß diese Erscheinungen nicht durch Nikotin bedingt sein können, sondern ihre Ursache vielmehr in Umwelteinflüssen haben, wie sie durch die Fabrikarbeit als solche gegeben sind. Diese äußeren Einflüsse wirken dabei vermutlich unmittelbar auf das Ovarium ein, und ändern seine Reaktionsfähigkeit. Wir haben schon einmal an anderer Stelle[11] darauf hingewiesen, daß viele Stoffe nicht immer unbedingt auf dem Wege über ein übergeordnetes Organ, wie es heute noch oft angenommen wird, die Tätigkeit innersekretorischer Drüsen beeinflussen. Sie wirken vielmehr, wie wir es für das Thyroxin[12] nachgewiesen haben, auch auf endokrine Drüsen ein, indem sie die Ansprechbarkeit dieser Drüsen gegenüber den entsprechenden übergeordneten spezifischen Reizen herabsetzen oder steigern.

Wir erwähnten bereits, daß sich Störungen der Schilddrüsentätigkeit bei Tabakarbeiterinnen nur sehr vereinzelt nachweisen ließen. Aus diesem Grunde kann die eingangs gestellte zweite Frage, ob zwischen den beobachteten Menstruationsstörungen und den von anderen Untersuchern festgestellten Veränderungen der Schilddrüsentätigkeit Zusammenhänge bestehen, nicht entschieden werden.

Zum Schluß seien noch kurz die Gründe angeführt, warum in älteren Statistiken viel häufiger Störungen der Ovarialfunktionen — z. B. 41,2% (Unbehaun), 52,1% (S. M. Klein) — und Störungen der Schilddrüsentätigkeit (Neiding) angegeben werden als wir sie in unseren Untersuchungen

[11] Erbacher, Grumbrecht, A. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195** 121 (1940). — [12] Grumbrecht u. A. Loeser: Ebenda **192**, 202 (1939); Klin. Wschr. **1939**, S. 1018.

fanden. Als Ursache hierfür sind einmal fehlende oder unzulässige Vergleichsuntersuchungen anzugeben. Weiterhin muß darauf hingewiesen werden, daß sich die Arbeitsbedingungen und die hygienischen Einrichtungen in den Tabakfabriken gegenüber früher wesentlich gebessert haben. Darauf wird auch von Deiss [13] sowie von Krüger, Rostoski und Saupe [14] aufmerksam gemacht. Unter Berücksichtigung der zuletzt angeführten Tatsache ist nicht auszuschließen, daß unter den damaligen Arbeitsbedingungen außer den auch von uns beobachteten unspezifischen Umwelteinflüssen dem Nikotin tatsächlich eine zusätzliche Bedeutung zukam.

Zusammenfassung.

Es wurde untersucht, ob bei Tabakarbeiterinnen infolge der dauernden Nikotineinwirkung Störungen der Ovarial- und Schilddrüsentätigkeit gehäuft auftreten, und inwieweit zwischen diesen Störungen Zusammenhänge bestehen. Dabei zeigte sich, daß derartige Störungen bei Arbeiterinnen in Tabakfabriken nicht häufiger zu finden sind als bei Textilarbeiterinnen.

[13] Deiss, K.: l. c. — [14] Krüger, Rostoski, Saupe: l. c.

Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Versuche über die Abhängigkeit des Histamingehaltes im Blutplasma von der Atmung.

Von

Oskar Eichler und Georg Speda.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 30. März 1940.)

Histamin wurde ursprünglich rein toxikologisch wegen seiner Entstehung bei der Eiweißfäulnis etwa im Darm und in Gewebsextrakten, dann auch als Substanz im Mutterkorn beachtet.

Besonderes Interesse erregte seine Wirkung auf den Blutdruck und die Bronchialmuskulatur, die in den maßgeblichen Versuchen von Dale und Laidlaw[1] in den Vordergrund gestellt wurden. Das Vergiftungsbild ähnelte im großen dem anaphylaktischen Shock, und seine Anwesenheit wurde in Peptonpräparaten (Witte-Pepton) gemutmaßt. Später wurde es als körpereigene Substanz erkannt[2] und beanspruchte Interesse auch zur Erklärung pathophysiologischer Reaktionen[3]. Die Entstehung aus dem Histidin des Eiweißes ermöglicht durch eine Decarboxylase jederzeit die Neubildung in fast beliebiger Menge.

Der Organismus kann also an zwei Stellen durch Histamin überschwemmt werden, nämlich aus den eigenen Organen und durch Resorption aus dem Darm. Er müßte also auch die Möglichkeit seiner Beseitigung haben. Diese ist gegeben durch ein histaminzerstörendes Ferment, die Histaminase die in der Darmwand und vor allem in der Niere vorgefunden wird, aber auch in der Lunge, Leber, usw. vorkommt. Da Histamin eine pharmakologisch außerordentlich aktive Substanz darstellt, interessiert natürlich in erster Linie sein Auftreten im Blut — also durch Freisetzung aus dem Gewebe — wobei es gleichgültig ist, ob das präformierte Histamin direkt oder erst nach Neubildung aus Histidin frei gemacht wird. Es kann jedoch nur wirksam werden — auch abseits vom Ort seiner Entstehung —, wenn es sich im Blut befindet. Wenn es in das Blut gelangt oder durch Injektion gegeben wird, verschwindet es außerordentlich rasch, so daß also eine sehr schnelle Entgiftung angenommen werden muß. Wo diese

[1] Dale, H. H., u. Laidlaw: J. Physiol. (Brit.) **41**, 318 (1910). — [2] Best, C. H., H. H. Dale, H. W. Dudley u. W. V. Thorpe: Ebenda **62**, 397 (1927). — [3] Zipf, K.: Histamin als körpereigene Substanz. Schriften der Königsberger gelehrten Gesellschaft (1937).

Entgiftung stattfindet, ist noch in keiner Weise definitiv geklärt. Man hat vielfach die Lunge dafür verantwortlich gemacht, weil eine besondere Stellung der Lunge im Histaminstoffwechsel durch ihren hohen Gehalt an Histamin darauf hinzuweisen scheint.

Hier werden Versuche mitgeteilt, die auf eine Entgiftung in der Lunge hindeuten und zugleich die ersten Bedingungen für diese Entgiftung in der Stärke der Lungenatmung aufzeigen. Dieser Befund wurde nicht gesucht, sondern ergab sich aus einer Versuchsserie, die zu ganz anderen Zwecken unternommen wurde. Später wurden die gefundenen Hinweise konsequent verfolgt.

Methodik.

Die Histaminbestimmung im Blut kann leider nicht nach chemischen Prinzipien vorgenommen werden, weil die Menge geringer ist als der Empfindlichkeit einer bisher bekannten chemischen Reaktion entspricht. Daher ist man also auf den biologischen Nachweis angewiesen. Hier steht im isolierten Meerschweinchendarm ein Testobjekt zur Verfügung, das schon auf Konzentrationen von 10^{-9} Histamin anspricht. Die Spezifität der Wirkung, besonders gegenüber dem im Gewebsextrakt vorhandenen Cholin wird durch gleichzeitige Behandlung mit Atropin erreicht, während andere bekannte ähnlich wirkende Gewebsprodukte — etwa die Adenylsäure — durch den Arbeitsgang von Barsoum und Gaddum[4], den wir in der Modifikation von Code[5] verwandten, ausgeschaltet werden.

Als Grundlage zur Aufarbeitung der bei unseren Versuchen entnommenen Blutproben benutzten wir also die Methode von Code. Hierbei ist besonders auf die genaue Abtrennung der Leukocyten zu achten, die sich im Katzenblut als dünne Schicht über den zentrifugierten Erythrocyten befinden. Wenn auch nur kleine Mengen von Leukocyten in die Analyse geraten, dann können ganz grobe Fehler entstehen, weil sich in ihnen — besonders in den Eosinophilen — große Mengen Histamin befinden, die das Vielfache der Werte des Plasmas betragen. Der Sitz der Leukocyten im Katzenblut wurde durch zahlreiche Ausstriche immer wieder festgestellt und später auch kontrolliert. Ihretwegen sind die früheren Histaminbestimmungen, die sich meist auf das ganze Blut erstreckten, wertlos. Zwei weitere Fehlerquellen müssen beim Gang der Analyse vermieden werden:

1. Durch die meisten die Koagulation des Blutes verhindernden Substanzen werden die Leukocyten geschädigt und geben dann das in ihnen

[4] Barsoum, G. S., u. J. H. Gaddum: J. Physiol. (Brit.) **85**, 1 (1935). — [5] Code, C. F.: Ebenda **89**, 257 (1937).

enthaltene Histamin ab. Nur Heparin wirkt nach Code nicht schädlich und wurde daher von uns verwendet*.

2. Das Zentrifugieren der Blutproben muß sofort, allerspätestens $^1/_2$ Stunde nach der Entnahme geschehen. Wir haben hierauf besonders sorgfältig geachtet und sofort im unmittelbaren Anschluß an die Blutentnahme zentrifugiert.

Am Anfang unserer Versuche wurde genau nach der Methode von Code verfahren. Für unsere Problemstellung ergab sich der Nachteil, daß die nach der Originalmethode notwendige Blutmenge von 10 ccm zu groß ist, um Verwendung zu finden zur vielfachen Wiederholung der Entnahme bei der Kontrolle eines Vorganges. Deshalb wurde im Institut die Methode von Barfuß so verändert, daß man mit 2 ccm Blut auskommt. Diese Änderung wurde jetzt ausschließlich angewandt. Die nach dieser und der Originalmethode von Code erhaltenen Normalwerte von Histamin im Katzenserum und -plasma unterschieden sich nicht voneinander; sie unterschieden sich jedoch von den Werten, die in der Literatur niedergelegt sind[6]. Wir fanden bei sorgfältiger Kontrolle aller Bedingungen (besonders unter Beachtung des Verbleibes der Leukocyten) Werte von 0,03—0,1 γ Histamin/ccm Plasma, während sonst Werte von 0,01—0,02 γ Histamin/ccm Plasma angegeben wurden. Worauf der Unterschied beruht, ob auf der angewandten Narkose (teils Urethan, teils Straubs Urethan-Chloralosegemisch), auf der Operation oder auf anderen unbekannten Ursachen wissen wir nicht. Wir haben unsere Methode immer wieder durch wiederholte Entnahmen während des Versuches — also ohne einen Eingriff — kontrolliert. Der Wert blieb konstant.

Bei Prüfung desselben Verfahrens am Menschenblut erhielten wir sofort die in der Literatur niedergelegten Werte von 0,02—0,1 γ Histamin/ccm Plasma. Deshalb hielten wir uns befugt, von den angegebenen Werten auszugehen und sie zugrunde zu legen. Die hohen Werte waren uns sogar von Vorteil bei unseren Befunden, von denen ein Teil schon kurz berichtet wurde[7], denn dadurch war es uns möglich, überhaupt Erniedrigungen des Histamingehaltes zu finden, während das bei einem Wert von 0,01 γ Histamin/ccm Plasma gar nicht möglich wäre, da damit die Grenze der Methodik erreicht ist, wo Abweichungen sich nur schwer verwerten lassen. Wir sind später noch derart vorgegangen, daß durch Histamininfusion der Histamingehalt weiterhin vermehrt wurde, um unsere Versuche auch dann noch zu kontrollieren.

---

* Das Heparin wurde uns als Vetren von der Firma Promonta durch Vermittlung von Herrn Apotheker Dr. Rahn zur Verfügung gestellt, wofür wir an dieser Stelle danken. Ebenso verdanken wir unser Histamin dem großzügigen Entgegenkommen der Firma Hoffmann-La Roche, der wir auch unseren Dank sagen. Unsere Werte beziehen sich auf das Histamindihydrochlorid dieser Firma. Auf Histaminbase würden unsere Zahlen auf 60% zu vermindern sein.

[6] Marcou, J.: Presse méd. **1938**, 1, S. 371—374. — [7] Eichler, O., u. G. Speda: Klin. Wschr. **1938**, S. 1811/12.

Resultate.

Zum ersten Male wurden wir auf die Bedeutung der Atmung aufmerksam als wir im Laufe unserer Versuche gezwungen waren, künstliche Atmung anzuwenden. Während bis zu diesem Tage der Normalwert bei etwa 0,1 γ Histamin pro ccm Plasma lag, wurden jetzt nur noch niedrige Werte beobachtet, wie Tabelle 1 zeigt.

Tabelle 1. Künstliche Atmung und Histamingehalt in γ/ccm Plasma.

Tag	I	II	III	IV
14. IX.	0,04	0,045	0,03	0,03
19. IX.	0,04	0,022	0,022	0,022
21. IX.	0,03	0,02	0,02	0,023
5. IX.	0,04	0,02	0,1	0,03 } Thorax-
7. IX.	0,02	0,04	0,01	0,01 } eröffnung

Man sieht bei manchen dieser Versuche sogar noch, wie der erste Wert größer ist als die folgenden. Bei den beiden letzten Versuchen ist das besonders deutlich, wo durch die Dauer der Operation der Thoraxeröffnung die Zeit bis zur ersten Entnahme hinausgezögert wurde. Der beim Versuch vom 5. Sept. aus der Reihe fallende Wert ist uns in seinem Zustandekommen nicht erklärlich. Wir registrieren ihn als Symptom dafür, daß manche Bedingungen durch unsere Darstellung nicht getroffen wurden. Man könnte ihn vielleicht darauf zurückführen, daß bei offenem Thorax die Lunge sich nicht ganz füllte, wie es ja manchmal vorkam. Wir sind leider nicht in der Lage darüber Auskunft zu geben, weil die Werte ja erst nach dem Versuch vorliegen.

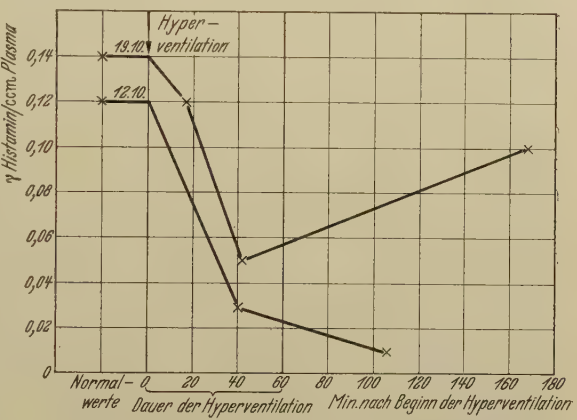


Abb. 1.

Die hier rein zufällig auftretende Veränderung wurde jetzt systematisch nachgeahmt durch einige Versuche, in denen wir für eine Zeit von 60 Minuten eine vermehrte Atmung mittels der Starlingpumpe erzeugten.

Wir sehen auf Abb. 1 an zwei Versuchen das Verhalten des Histamins durchaus in dem von uns vorgetragenen Sinn; bei dem einen Versuch nach einer längeren Zeit die Rückkehr zu wiederum erhöhten Werten. Als Kriterium einer genügenden Hyperventilation wurde eine Apnoe

von 30—60 Sekunden nach Beendigung der künstlichen Atmung betrachtet. Um eine ganze Skala der Hyperventilationswerte zu erhalten, wurde ein Tier nach spontaner Atmung mit verschiedenen Frequenzen hyperventiliert. Etwa 30 Minuten nach Änderung der Frequenz erfolgten die Blutentnahmen. Wir geben die Werte auf der Tabelle 2 wieder:

Tabelle 2.

	Spontan		Künstlich				
Frequenz/Min.:	38	40	24	31	50	67	84
Histamin in γ/ccm Plasma	0,04	0,04	0,08	0,024	0,016	0,02	0,02

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die einsetzende künstliche Atmung bei niederer Frequenz, bei der die Katze noch spontane Atemzüge machen mußte, zur Erhöhung führte. Bei höherer Frequenz nahm der Histamingehalt ab, aber unterschritt trotz stärkster Hyperventilation nicht einen gewissen minimalen Wert.

Als Vervollständigung dieser Versuche wollen wir auf eine andere Art der Erniedrigung des Histamingehaltes hinweisen. Wenn Tiere, wie es am Anfang der Versuche gelegentlich vorkam, sich durch Narkose unterkühlt hatten und schon während dieser Phase Blutproben entnommen wurden, dann zeigten sich hohe Histaminwerte, die späterhin bei Erwärmung des Tieres zurückgingen. Wir führen als Beispiel dazu einen Versuch (2. Sept. 1938) an, bei dem ein Ausgangswert von 0.28 γ Histamin/ccm Plasma und eine Temperatur von 31,6° zusammenfielen. Bei Erwärmung auf 37,5° fiel dieser Wert auf 0,1 γ, um auch bei weiteren Entnahmen ohne Eingriff auf dieser Höhe zu bleiben*. Auch dieser Vorgang ließe sich auf die Frage der stärkeren Ventilation bei vermehrter Erwärmung zurückführen, zumal wir bei anderen Versuchen regelrechte Hyperthermien mit Hyperventilation erzeugten und noch stärkeres Absinken bis auf 0,03 γ Histamin/ccm Plasma beobachteten. Wir wollen diese Versuche nur noch nebenbei erwähnen. Sie wurden nicht absichtlich vorgenommen und daher nicht mit Messung der Ventilationsgröße begleitet.

Auch nach Cardiazol wurde nach Hyperventilation von uns ein Absinken des Wertes von 0,03 auf 0,02 γ Histamin/ccm Plasma beobachtet, obwohl Krämpfe auftraten. Diese Krämpfe wirkten deswegen erschwerend, weil Muskelbewegungen nach den Befunden von Anrep Freisetzung von Histamin veranlassen[8]. Es hätte also hier eine Erhöhung in Erscheinung

* In einem Versuch (20. Juli 1938) sahen wir ein Absinken des Histamingehalts von 0,16 auf 0.04 γ Histamin/ccm Pl., ohne daß eine Temperatursteigerung beobachtet wurde. Den Grund können wir nicht angeben, zumal eine Registrierung der Atmung nicht vorgenommen wurde. Damals mußten noch die großen Blutmengen von 10 ccm entnommen werden.

[8] Anrep, G. V.: J. Physiol. (Brit.) **85**, 408 (1935).

treten müssen. Über Cardiazol werden wir noch später sprechen. In unserem Zusammenhang ist eine Bemerkung von Anrep wichtig, der berichtet[9], daß nach vorheriger Gabe von Pikrotoxin die Empfindlichkeit der Katze für Histamin geringer geworden ist. Als Ursache dieses Befundes können wir nach unseren Versuchen dazu angeben, daß durch die eintretende Hyperventilation die Filtertätigkeit der Lunge steigt, so daß weniger Histamin in den großen Kreislauf gelangen kann.

Daß tatsächlich eine Filterwirkung und nicht eine Beeinflussung der Peripherie maßgeblich ist, können wir aus unseren Versuchen über die Wirkung von Histamininfusionen auf den Histamingehalt des Plasmas entnehmen. Von diesen Versuchen wollen wir an dieser Stelle nur ein Wertepaar aus vielen anführen. Bei einem Versuch (15. Jan. 1940) hatte der Histamingehalt des Plasmas den hohen Wert von 0,24 γ bei einem Atemvolumen von 210 ccm/Min. Trotz Infusion von 9,4 γ Histamin/kg/Min. war nach 9 Minuten der Histamingehalt bei einer Atemgröße von 450 ccm/Min. auf 0,16 γ gesunken. Wir wissen aus früheren Versuchen[10], daß durch Histamin ein Stoffwechselvorgang veranlaßt wird, der über eine Säureausschüttung zur Acidose und Hyperventilation führen kann.

Wenn wir unsere Versuche, die zeigen, daß durch Hyperventilation eine stärkere Abfilterung des Histamins stattfindet, mit den früheren Angaben vergleichen[11], werden wir die Frage stellen, ob die Auslegung der früheren Versuche hier nicht eine neue Illustration erfahren hat. Damals[10, 11] wurde die entstehende Acidose als maßgeblich für die Tachyphylaxie des Histamins beim Kaninchen angesehen. Wir würden jetzt fragen können, ob nicht die dadurch erreichte Hyperventilation verantwortlich zu machen sei für den damaligen Befund. Diese Auffassung ist nicht berechtigt, denn bei den früheren Versuchen wurde vielfach mit künstlicher Atmung gearbeitet; dann aber wurde in den Kurven, in denen die Bronchialweite am lebenden Tier bei intaktem und funktionierendem Atemzentrum gemessen wurde (s. d.) erreicht, daß z. B. auf Gaben von NH_4Cl zugleich mit der vermehrten Atmung (durch Säurebildung) eine Verminderung der Bronchialwirkung gemessen wurde. Diese Wirkung blieb aber nur solange bestehen wie die am Atemzentrum merkbare Säuerung, dann kehrte der Bronchialmuskel wieder in seine alte Lage zurück. Also Histamin blieb weiter wirksam, und nur durch die Säuerung (CO_2-Spannung) wurde das Organ unerregbar.

Diese an Kaninchen erhobenen Befunde wurden später auch an der Katze wiedergefunden. Das bedeutet, daß zwei Faktoren bestehen, die Histamin inaktivieren: Säuerung und vermehrte Ventilation. Wenn wir einmal von der Funktion des Atemzentrums ausgehen, finden wir bei versagendem Atemzentrum Säuerung und Inaktivierung der Organe gegen

[9] Anrep, G. V.: J. Physiol. (Brit.) **96**, 240 (1938). — [10] Eichler, O., u. H. Killian: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **159**, 606 (1931). — [11] Eichler, O., u. H. Mügge: Ebenda, S. 613 u. 633.

die Histaminwirkung. Wenn aber das Atemzentrum in eine erhöhte Aktivität kommt, dann wird Histamin vermehrt in der Lunge entgiftet und als Substanz abgefangen. Es wirkt also stark auf die Kreislauf- und Atemorgane, die wir hier vorerst als die nur von uns untersuchten im Auge haben, ausschließlich im direkten physiologischen Bereich der Aktivitätsverhältnisse der Organe. Dies stellt eine Sicherung dar, die man bei einem so gefährlichen körpereigenen Stoff vielleicht für notwendig ansehen könnte.

Die eben angeführten Gedanken bedürfen noch einer Einschränkung durch Erweiterung der experimentellen Grundlagen. Bisher haben wir die Frage erörtert, wie durch Hyperventilation der Histamingehalt im Blut abnimmt. Die entgegengesetzte Frage, ob man durch eine Verminderung der Ventilation das Gegenteil erreichen kann, wurde gestreift in der Tatsache, daß nach Aufhören der künstlichen Atmung der vorübergehend gesenkte Histaminspiegel wieder zu steigen beginnt. Diese Frage bedurfte in Hinsicht der Morphinwirkung noch einer Erweiterung, wodurch dann die Untersuchung eine gewisse Geschlossenheit erlangt.

Unsere Versuche legen wir in zwei Tabellen nieder. Auf Tabelle 3 berichten wir über die Versuche mit großen tödlichen Morphindosen.

Tabelle 3. Histamingehalt in γ/ccm Plasma bei Gaben von 5 mg/kg Morphin.

Tag	Entnahme	I	II	III	IV	V	VI	VII
26. I.	Atemvolumen in ccm/Min.		450	375	375	300	150	
	Min. nach Morphingabe ..			4	6	14	44	
	Histamingehalt		0,04	0,04	0,04	0,04	1,04	
29. I.	Atemvolumen in ccm/Min.	300	300	45	45	120	60	60
	Min. nach Morphingabe ..			2	4	16	18	19
	Histamingehalt	0,032	0,032	0,04	0,2	0,12	0,08	0,12
2. II.	Atemvolumen in ccm/Min.	375	540	225	225	60	255	
	Min. nach Morphingabe ..			1	4	11	24	
	Histamingehalt	0,032	0,04	0,064	0,08	0,12	0,104	
5. II.	Atemvolumen in ccm/Min.	375	450	75	0	195	450	180
	Min. nach Morphingabe ..			2	5	10	15	16
	Histamingehalt	0,056	0,04	0,032	0,08	19,2	7,6	3,2
12. II.	Atemvolumen in ccm/Min.	300	300	180	255	180	300	
	Min. nach Morphingabe ..			5	8	12	14	
	Histamingehalt	0,04	0,04	0,008	0,024	0,056	0,04	
7. II.	Atemvolumen in ccm/Min.	255	300	konnte nicht gemessen werden				
	Min. nach Morphingabe ..			3	5	8		
	Histamingehalt	0,032	0,032	0,024	0,13	10,0		

Auf der Tabelle sind anfangs die aus zweimaliger Blutentnahme herrührenden gut übereinstimmenden Normalwerte als Ausgangswerte mitgeteilt. Dann sehen wir der Richtung nach tatsächlich eine ziemlich bald einsetzende Erhöhung des Histamingehaltes, die auch der Senkung des geförderten Atemvolumens entspricht. Aber die Verhältnisse sind in

keiner Weise so zu deuten, daß eine Proportionalität besteht, daß etwa zu einem bestimmten Atemvolumen ein bestimmter Histamingehalt zugeordnet werden könnte. Leider sind doch von uns augenblicklich noch nicht zu übersehende Momente vorhanden. Ich verweise hier auf den Versuch vom 26. Jan. 1940. Eine Reduktion der Atmung auf den doch noch ganz guten Wert von 180 ccm Luft führt zu Steigerung des Histamingehaltes auf das 25fache. In dem nächstfolgenden Versuch ergeben 60 ccm eine Steigerung nur auf das 3–4fache (ebenso im Versuch vom 2. Febr. 1940). Anfangs nach der Morphingabe findet sich eine vorübergehende Atemsteigerung. Diese und die Verzögerung der Histaminfreisetzung führen zu dem niedrigen Wert von 0,04 γ Histamin/ccm Plasma bei einem Atemvolumen von 45 ccm Luft/Min. beim zweiten Versuch der Tabelle. Die Verzögerung ist auch beim vierten Versuch sichtbar (5. Febr. 1940), wo die Atmung vorübergehend ganz aufhört; die Entnahme bei Beginn der Atmung zeigt den enormen Wert von 19,2 γ — also fast das 500fache des Normalwertes — der nach Beginn der Atmung allmählich abklingt. Diese Verzögerung auch bei kleinerer Dosierung findet sich auf Tabelle 4 (Versuch vom 28. Febr. 1940).

Die von uns gemessenen hohen Werte finden ein physiologisches Korrelat in zwei Punkten: In der Erniedrigung des Blutdrucks und der entstehenden Lungenblähung, wie man sie nach Histamininjektionen als Folgezustand der Bronchialkonstriktion findet.

Auf der Tabelle 4 geben wir unsere Versuche mit kleineren Morphindosen wieder, die im wesentlichen nichts prinzipiell Neues bringen, abgesehen von der deutlichen Reversibilität der Wirkung bei wiedereinsetzender Atmung.

Tabelle 4. Histamingehalt in γ/ccm Plasma bei Gaben von 1 mg/kg Morphin.

Tag	Entnahme	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
14. II.	Atemvolumen in ccm/Min.	375	380	135	135	75			
	Min. nach Morphingabe ...			2	6	15			
	Histamingehalt	0,032	0,032	0,04	0,08	0,12			
16. II.	Atemvolumen in ccm/Min.	480	150	225	100	150	85	75	260
	Min. nach Morphingabe ..		3	6	10	30	40	3	6
	Histamingehalt	0,04	0,078	0,065	0,08	0,065	0,096	1,5	0,8
23. II.	Atemvolumen in ccm/Min.	525	490	150	250	30	90	225	225
	Min. nach Morphingabe ..			1	5	6	11	53	60
	Histamingehalt	0,04	0,04	0,056	0,056	6,66	0,4	0,16	0,08
28. II.	Atemvolumen in ccm/Min.	500	410	330	330	0	30	120	120
	Min. nach Morphingabe ..			3	9	2	6	38	40
	Histamingehalt	0,04	0,04	0,04	0,04	0,08	0,8	0,12	0,12
	Morphindosis			0,1 mg/kg		0,2 mg/kg			

Wenn wir die in der Richtung zwar einheitlich liegenden Werte sehen, die aber in quantitativer Hinsicht noch viele Rätsel aufgeben, werden wir

uns nach einer möglichen Erklärung der Verhältnisse umtun. Wir glauben dergleichen — jedenfalls einen möglichen Faktor — in der Entwicklung des Lungenödems gefunden zu haben. Chronische Histamininfusionen führen nach einiger Zeit zur Ausbildung eines Lungenödems auch dann, wenn nach Rückkehr des anfangs gesenkten Blutdrucks zur Norm die Entwicklung der Tachyphylaxie sich kundtut[12]. Gesetzt nun, daß die Histaminfreisetzung des im Plasma erscheinenden Histamins in der Lunge an den Stellen stattfindet, wo das Blut durchfließt — eine fast triviale Voraussetzung — aber von der Ventilation abhängig (wie vorher gefunden), dann wird ein auftretendes Lungenödem die Verhältnisse in folgender Richtung ändern:

Entweder die Ödembildung ist auf gewisse Teile beschränkt, dort aber kompakt, dann wird das Blut um diese Teile herumfließen und so auf gut mit Sauerstoff versorgte Lungenpartien stoßen. Dann kann auch die Ventilation — in ccm bewegter Luft gemessen — genügend sein ohne tatsächlich die Verhältnisse zu ändern. Wenn aber das Ödem sich randständig zugleich mit Atelektasen entwickelt, dann wird das Blut durch diese schlecht mit Sauerstoff versorgten Partien auch fließen, weil sie dem Blutstrom keinen Widerstand bieten, und der Histamingehalt wird steigen.

Wenn man sich die Verhältnisse betreffs der O_2-Diffusion klarmacht, dann wird man im Gedankenexperiment sogar ohne weiteres verifizierbare Zustände darstellen können, die trotz steigender Atmung den Histamingehalt zum Steigen bringen. Dies alles vorausgesetzt, daß die O_2-Spannung in dem Lungengewebe dasjenige Agens ist, daß die Histaminfreisetzung veranlaßt. Diese Frage muß aber in weiteren Experimenten, die jetzt unternommen werden, ihre Klärung finden.

Was für die Freisetzung von körpereigenem Histamin gilt, muß auch für die Entgiftung des infundierten Histamins angewandt werden. Wenn wir eine weitere Reihe unserer Versuche ansehen, bei denen während der Histamininfusion eine Atemlähmung spontan auftritt — denn unter solchen Bedingungen wird das Atemzentrum gelähmt und ist hochempfindlich —, dann sehen wir zugleich mit dem Lungenödem einen rapiden Anstieg des Histamingehalts im Plasma. Wenn wir nun dieselben Versuche mit Morphin anstellen, dann sehen wir eine Steigerung des Histamins zwar auftreten und — wenn sie auftritt — findet sie rascher statt als ohne Infusion, aber die Verhältnisse sind nicht so einheitlich wie bei der ausschließlichen Verwendung von Morphin. Einige positive Versuche geben wir auf beistehender Tabelle 5 wieder.

Tabelle 5. Histamin in γ/ccm Plasma.

Vor 5 mg/kg Morphin	2 bis 4 Min. später
0,2	0,4
0,16	0,48
0,16	0,36

[12] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 429 (1937).

Aber eines kann man sehr regelmäßig erhalten, die Beschleunigung des Lungenödems, dessen Betrag und Lokalisation aber nicht ohne weitere Versuche gemessen werden kann. Diese letzteren Versuche geben uns einen Eindruck von den Gründen, die dazu geführt haben, warum beim Lungenödem der Grünkreuzkampfstoffe vor Morphin als lebensbedrohlich bei allen Völkern des Weltkrieges gewarnt wurde. Die Begründung der Kontraindikation erfährt auch eine Erweiterung nach neuerlichen Befunden, daß durch Grünkreuzkampfstoff auch Histamin frei gemacht wird[13] und sogar durch histaminzerstörende Eingriffe therapeutische Erfolge erzielt wurden[13].

Wir möchten in diesem Zusammenhang nochmals auf unseren Befund hinweisen, daß zwar sekundär durch Histamin das Atemzentrum erregt wird, daß aber bei dauerndem höheren Gehalt das Atemzentrum ganz rasch und irreversibel zusammenbrechen kann. Auch die Schädigung der Lungenkapillaren mit Lungenödem erfolgt nicht bei nur kurzen hohen Steigerungen.

Bei unseren Versuchen ergibt sich nun die Frage, ob die Morphinwirkung ausschließlich über die Atmung geht oder ob noch andere eigene Wirkungen des Morphins eine Rolle spielen. Wir haben also Tieren, die künstlich beatmet wurden, Morphin in unseren früheren hohen Dosen gegeben, d. h. also, daß keine Atemwirkung zur Geltung kommen konnte. Die Resultate zeigen wir auf Tabelle 6.

Tabelle 6. Histamingehalt in γ/ccm Plasma bei künstlicher Atmung und Gaben von 5 mg/kg Morphin.

Tag	Entnahme	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
9. II.	Frequenz/Min.			24	24	24	24	24	24
	Min. nach Morphingabe				2	5	10	25	60
	Histamingehalt	0,024	0,024	0,024	0,024	0,024	0,024	0,024	0,024
21. II.	Frequenz/Min.		47	47	47	47	47	47	47
	Min. nach Morphingabe				1	5	19	1	3
	Histamingabe	0,04	0,008	0,008	0,008	0,024	0,024	0,008	0,008
19. II.	Morphingabe in mg/kg			1+2	5		5		
	Min. nach Morphingabe			3	4	10	6	10	
	Histamingehalt	0,032	0,032	0,032	0,032	0,04	0,104	0,16	

Wir haben hier eine Katze mit angeführt (19. Febr.), die spontan atmete, aber gegen Morphin vollkommen unempfindlich war. Wir sehen keine Änderung des Histamingehalts. Als diese Katze doch schließlich bei der letzten Injektion den Beginn der Atemlähmung zeigt, steigt auch der Histamingehalt an.

Hier soll noch die Frage der Cardiazolwirkung eine neue Beleuchtung erfahren, weil sie Bedeutung haben kann für therapeutische Fragen z. B. des

[13] Unger, G., u. M. Bolgert; C. r. Soc. Biol. **129**, 1107 (1938).

Lungenödems. Schon vorher streiften wir kurz einen Versuch mit Erniedrigung der Histaminmenge. Wir legen einen weiteren Versuch als Beispiel vor auf Tabelle 7.

Tabelle 7. Histamingehalt in γ/ccm Plasma nach Injektion von 10 mg/kg Cardiazol*.

Katze 3,6 kg. Narkose mit 1 g/kg Urethan. Spontanatmung.

Entnahme	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Atemvolumen in ccm/Min. . .	900	900	2700	2100	1800	900	1000	1000
Zeit nach Cardiazol in Min.			4	7	15	45	75	120
Histamingehalt	0,064	0,064	0,028	0,022	0,040	0,064	0,048	0,056

Nach Ablauf dieses Versuchs wurde derselben Katze eine neuerliche Dosis von 10 mg/kg Cardiazol verabreicht, also die gleiche sehr hohe Dosis. Die Wirkung ist jetzt dem Anschein nach durchaus different, nämlich der Histamingehalt beginnt zu steigen. Dabei ist der Anstieg begleitet durch eine Steigerung des geförderten Atemvolumens, wie man es nach Cardiazol erwarten durfte. Diese Steigerung würde aber zu falschen Schlüssen führen, wenn man nicht die Atemfrequenz von 260mal in der Minute berücksichtigte, die fast nur zur Bewegung der Luft des schädlichen Raumes Anlaß gibt. Schon früher [14] wurde auf die Notwendigkeit hingewiesen, diese Tatsache bei Abschätzungen von Analepticis zu berücksichtigen. Diese übermäßige Frequenzbeschleunigung der Atmung kann sich zu Krämpfen steigern, die unter besonderen Bedingungen (was auch das Verhalten des Zwerchfells betrifft, s. dazu [14]) nicht nur den Histamingehalt des Blutes erhöhen, sondern auch zu Lungenödem wie bei unseren Versuchen führen kann, wobei sich unsere Beobachtungen an kürzlich veröffentlichte Befunde von Jarisch [15] anschließen. Aber auch hierzu gehört die Dauer des Zustandes.

Mit diesen Versuchen ist der Kreis geschlossen für eine erste Annäherung unserer Vorstellungen über die Entgiftung von Histamin, aber nicht so, daß nicht neue Probleme auftauchen. Vielleicht sieht man sogar mehr Probleme als zu Beginn dieser Arbeit.

Zusammenfassung.

Versuche an der Katze führen zu dem Nachweis, daß Histamin in der Lunge entgiftet wird, daher aus dem Blutplasma verschwindet.

Diese Entgiftung ist abhängig von der Stärke der Ventilation.

Bei starker Atmung sinkt der Gehalt, auch injiziertes Histamin wird stärker abgefangen.

* Die Injektion erfolgte in der Zeit von 1 Minute.

[14] Eichler, O., u. H. W. Klein: Z. exper. Med. **99**, 28 (1936). — [15] Jarisch A., u. H. Thoma: Klin. Wschr. 1940, 76.

Die Atmung wurde verstärkt durch Wärmedyspnoe, künstliche Hyperventilation, Cardiazol oder auch durch die sekundäre Wirkung einer Histamininfusion auf das Atemzentrum.

Führt die Verstärkung der Atmung durch eine vorwiegende exzessive Steigerung der Frequenz nur zur Hin- und Herbewegung der Luft des schädlichen Raumes, dann kann der Histamingehalt sogar steigen, trotz anscheinender vermehrter Ventilation.

Ebenso steigt er bei anderer Art der verminderten Ventilation z. B. durch Gabe von Morphin bei Lähmung des Atemzentrums durch Histamininfusion oder durch Unterkühlung.

Die Wirkung von Morphin ist ausschließlich abhängig von der Wirkung auf das Atemzentrum und tritt nicht auf bei künstlicher Atmung.

Der Histamingehalt steht in enger Beziehung zur Bildung eines Lungenödems.

Aus dem Pharmakologischen Institut und dem Institut für physiko-chemische Medizin der Universität Kiel.

Beitrag zum Abbau der α-Aminosäuren.

Über das Verhalten der Mandelsäure im Organismus.

Von

Dietrich Montenbruck.

(Eingegangen am 8. März 1940.)

In den letzten Jahren sind die Mandelsäure und ihre Salze ($C_6H_5 \cdot CHOH \cdot COOH$) wegen ihrer angeblich bactericiden Wirkung in den Harnwegen mannigfach untersucht worden. Da in den bisherigen Arbeiten einige Unklarheiten bestanden, wurden auch im hiesigen Institut[1] Untersuchungen namentlich über folgende Fragen angestellt:

1. In welchem Verhältnis steht nach Eingabe von Mandelsäure beim Menschen Einfuhr per os und Ausfuhr im Harn?

2. In welcher Zeit wird die per os aufgenommene Mandelsäure im Harn ausgeschieden?

3. Geht die Mandelsäure wirklich unverändert — d. h. zu 100% — in den Harn über?

A. Scholz konnte zeigen, daß nach Verfütterung von Mandelsäure beim Menschen ätherlösliche Säuren im Harn auftreten, wobei durch Titration festgestellt wurde, daß ihre Menge der verfütterten Mandelsäure entspricht. Diese Säureausscheidung war einige Stunden nach der Verfütterung beendet, so daß daraus auf eine recht schnelle Ausscheidung geschlossen werden darf. Es wurde weiterhin die interessante Feststellung gemacht, daß diese „Säure" im Harn nur zu 72% aus Mandelsäure besteht; außer ihr wurden etwa 13% Benzoylameisensäure (Phenylglyoxylsäure), $C_6H_5 \cdot CO \cdot COOH$, und etwa 13% Benzoesäure[2], $C_6H_5 \cdot COOH$, gefunden. Von der ausgeschiedenen Mandelsäure war ein Teil (etwa 6,5%) in optisch aktiver, linksdrehender Form vorhanden, obgleich reine racemische Mandelsäure verfüttert war.

Aus diesen Befunden ergab sich u. a. folgende Fragestellung: Wird bei der Verfütterung von Benzoylameisensäure im menschlichen Organismus auch Mandelsäure gebildet, und ist gegebenenfalls das Mengenverhältnis von Mandelsäure zu Benzoylameisensäure das gleiche wie bei der Verfütterung von Mandelsäure? D. h.: Stellt sich im Organismus ein Gleichgewicht zwischen oxydierter Substanz (Benzoylameisensäure) und reduzierter Substanz (Mandelsäure) ein?

[1] Scholz, A.: Inaug.-Diss. (Med.) Kiel 1937. — [2] An Glykokoll gebunden als Hippursäure.

Anlaß zu dieser Frage gaben auch einige ältere Arbeiten, die A. Scholz (l. c.) am Ende seiner Abhandlung referiert:

„Benzoylameisensäure wurde neben Mandelsäure schon früher von O. Neubauer im Harn gefunden, und zwar nach Verfütterung von Phenylaminoessigsäure, $C_6H_5 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH$ [O. Neubauer, Arch. klin. Med. **95**, 231 (1909)]. Neubauer schließt aus seinen Versuchen, daß die Phenylaminoessigsäure im Organismus primär zu Benzoylameisensäure oxydiert wird, und daß diese zum Teil zu Mandelsäure reduziert wird. Die von ihm isolierte Mandelsäure war schwach linksdrehend. — Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch O. Neubauer und H. Fischer (Z. physiol. Chem. **67**, 237 (1910) bei der künstlichen Durchblutung einer überlebenden Hundeleber mit Phenylaminoessigsäurelösung. Auch hier bildete sich Benzoylameisensäure und Mandelsäure. Sie zeigten weiter, daß die Umwandlung nicht nur in der künstlich durchbluteten Leber vor sich geht, sondern auch in Gegenwart von zerhackter Hunde- und Rinderleber. — Weiterhin zeigten Dakin und Dudley [J. biol. Chem. (Am.) 18, 29 (1914); Chem. Zentralbl. **1914**, II, 578], daß bei Durchströmung von überlebender Hundeleber mit Benzoylameisensäure aus dieser l-Mandelsäure und Benzosäure sowie α-Aminophenylessigsäure gebildet werden. Nach diesen Befunden wäre daran zu denken, daß verfütterte Mandelsäure im Organismus vielleicht primär vollständig zu Benzoylameisensäure oxydiert wird, und daß diese dann sekundär wieder zu Mandelsäure (wenn auch nicht vollständig) reduziert wird."

Die Untersuchungen der Benzoylameisensäure und der racemischen Mandelsäure wurden von F. Wrede und D. Montenbruck am Menschen und, zur Kontrolle der in den älteren Arbeiten angeführten Daten, auch am lebenden Hunde durchgeführt. Dabei wurde u. a. festgestellt, daß beim Menschen etwa 69% der verfütterten Benzoylameisensäure sich unverändert im Harn wiederfinden; ferner wurden etwa 6,2% linksdrehende Mandelsäure und etwa 13% über die Norm vermehrte Benzoesäure nachgewiesen[3]. Demnach tritt ein Gleichgewicht zwischen reduzierter und oxydierter Substanz offenbar nicht ein. Jedoch fand ich bei dem Vergleich mit den früheren Angaben wesentliche Widersprüche, die besonders schwerwiegend sind, da die älteren Versuche (O. Neubauer) die Grundlage zur Aufstellung weitgehender Schlußfolgerungen von allgemeiner Wichtigkeit für den Eiweißstoffwechsel waren.

O. Neubauer hat in seiner grundlegenden Arbeit über den Abbau der α-Aminosäuren[4] zum ersten Male die Begriffe „oxydative Desaminierung" und „optisch aktive Reduktion" geprägt. Diese Auffassung über den Hauptabbauweg der Aminosäuren im Organismus wurde einige

[3] Montenbruck, D.: Inaugural-Diss. (Med.) Kiel 1938. — [4] Arch. klin. Med. **95**, 1909.

Zeit als erwiesen und allgemein gültig angesehen. Zahlreiche Erfahrungen der letzten Jahre haben jedoch ergeben, daß die oxydative Desaminierung als Abbauweg der natürlichen (l-) Aminosäuren überhaupt nicht in Frage kommt. Bei vielen liegt offenbar eine Umaminierung mit der Ketoglutarsäure[5] zugrunde, bei anderen kompliziertere, im einzelnen noch nicht erkannte Oxydationsprozesse, die z. B. bei Tyrosin zur Spaltung in einen N-haltigen und N-freien Rest führen[6]. Lediglich für den Abbau der unnatürlichen (d-) Aminosäuren wird noch die oxydative Desaminierung diskutiert, und in vielen Fällen anscheinend mit Recht, da die entsprechenden Ketonsäuren präparativ erfaßt werden konnten. Trotzdem ist es für die (d-) Aminosäuren angebracht, auch auf die Möglichkeit der inzwischen gar nicht mehr herangezogenen hydrolytischen Desaminierung hinzuweisen. Dazu ist man vor allen Dingen auf Grund der Tatsache berechtigt, daß das Verhalten der Phenylaminoessigsäure und der Mandelsäure für die letztgenannte Form des Abbaus spricht und keinerlei Stütze für die oxydative Desaminierung bringt, wie es Neubauer seinerzeit irrtümlich vermutete.

Ausgehend von Versuchen an einem Alkaptonuriker hatte O. Neubauer nämlich die folgenden Beobachtungen teils am lebenden Hund, teils am isolierten Organ gemacht. Er benutzte u. a. zu seinen Versuchen die körperfremde α-Aminosäure Phenylaminoessigsäure ($C_6H_5 \cdot CHNH_2 \cdot COOH$), die er in racemischer wie auch in optisch-aktiver Form an Hunde und Kaninchen verfütterte. Er stellte dabei fest, daß nach Verfütterung von racemischer Phenylaminoessigsäure im Harn u. a. reichliche Mengen von Benzoylameisensäure (Phenylglyoxylsäure) auftraten. Er nahm anfangs an, daß dieser Abbau nach dem Schema:

$$\underset{\text{(Phenylaminoessigsäure)}}{C_6H_5 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH} \longrightarrow \underset{\text{(Mandelsäure)}}{C_6H_5 \cdot CH(OH) \cdot COOH} \longrightarrow \underset{\text{(Benzoylameisensäure)}}{C_6H_5 \cdot CO \cdot COOH}$$

vor sich gehen müsse. Als er aber Mandelsäure verfütterte, fand er nur „eine Spur" Benzoylameisensäure. Daraus folgerte er, daß Mandelsäure nicht das Zwischenprodukt sein könne, und daß der Abbau der Aminosäure direkt, unter Oxydation und Abspaltung von Ammoniak, zur Benzoylameisensäure führen müsse:

$$\underset{\text{(Phenylaminoessigsäure)}}{C_6H_5 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH} \longrightarrow \underset{\text{(Benzoylameisensäure)}}{C_6H_5 \cdot CO \cdot COOH}$$

Er nannte diesen Vorgang „oxydative Desaminierung".

Diese Beobachtung Neubauers, die er scheinbar nur einmal bei einem Hunde machte, konnte nicht bestätigt werden. Durch den jetzt erbrachten Nachweis, daß nach Verfütterung von racemischer Mandel-

[5] Braunstein u. Kritzmann: Nature **140**, 503 (1937); Knoop, Naturwis. **27**, 258 (1939). — [6] Felix, Dirr u. Zorn: Z. physiol. Chem. **247**, 141 (1937).

säure beim Hunde nicht unerhebliche, beim Menschen sogar sehr erhebliche Mengen von Benzoylameisensäure im Harn erscheinen, ist gezeigt, daß die oxydative Desaminierung — zum mindesten in dem von Neubauer angeführten Falle — zu Unrecht angenommen wurde.

O. Neubauer hat auf Grund seiner Versuche noch einen zweiten grundlegenden Begriff eingeführt, nämlich den der „optisch aktiven Reduktion", von der er selbst sagt, daß sie im Tierkörper noch nie beobachtet wurde. Er hatte nach Verfütterung von Phenylaminoessigsäure auch linksdrehende Mandelsäure gefunden. Man konnte zuerst daran denken, daß aus Phenylaminoessigsäure im Organismus racemische Mandelsäure gebildet würde, und daß bei dieser der rechtsdrehende Anteil zerstört, während der linksdrehende ausgeschieden würde. Diese Annahme hätte allerdings zu der „oxydativen Desaminierung" im Widerspruch gestanden. — Um weiteres Beweismaterial zu erbringen, verfütterte Neubauer racemische Mandelsäure; danach fand er keine linksdrehende Mandelsäure im Harn, sondern nur racemische und schwach rechtsdrehende Mandelsäure. Somit schien es ausgeschlossen, daß aus Phenylaminoessigsäure racemische Mandelsäure entstand, deren rechtsdrehender Anteil dann vom Organismus „verzehrt" wurde. — Neubauer sagt wörtlich, es sei unmöglich,

„daß bei der Reduktion der Ketosäure zunächst inaktive Mandelsäure entsteht, und daß von dieser der d-Anteil weiter verbrannt wird, während der l-Anteil unverändert ausgeschieden wird; denn d-Mandelsäure ist nicht leichter verbrennbar als l-Mandelsäure, wie besondere Versuche lehrten: racemische Mandelsäure wird beim Hund im wesentlichen als racemische oder schwach rechtsdrehende Mandelsäure wieder ausgeschieden. Die Reduktion der Phenylglyoxylsäure (Benzoylameisensäure) muß also von vornherein so geleitet werden im Organismus, daß nur die linksdrehende Modifikation der Mandelsäure entsteht."

Es mußte demnach — unter Einbeziehung der These von der oxydativen Desaminierung — folgendes Schema angenommen werden:

$$\underset{\text{(Phenylaminoessigsäure)}^{7}}{C_6H_5 \cdot CH(NH_2) \cdot COOH} \longrightarrow \underset{\text{(Benzoylameisensäure)}}{C_6H_5 \cdot CO \cdot COOH}$$

$$\longrightarrow \text{linksdr. } \underset{\text{(Mandelsäure)}}{C_6H_5 \cdot CH(OH)COOH}$$

Diesen Abbau nennt Neubauer die „optisch aktive Reduktion".

Es wurde nun aber einwandfrei nachgewiesen, daß sowohl beim Hunde[8] wie beim Menschen[9] nach Eingabe von racemischer Mandelsäure linksdrehende Mandelsäure auftritt. Da ich soeben gezeigt habe, daß

[7] Neubauer fand, daß nur die rechtsdrehende Form diesen Abbau erleidet, während die linksdrehende Form größtenteils unverändert ausgeschieden wird. — [8] D. Montenbruck: Inaug.-Diss. (Med.) Kiel 1938. — [9] Scholz, A.: Inaug.-Diss. (Med.) Kiel 1937.

die „oxydative Desaminierung" beim Abbau der Phenylaminoessigsäure keineswegs bewiesen ist, darf mit Recht gefolgert werden, daß auch die Annahme einer „optisch aktiven Reduktion" hier zu Unrecht besteht.

Man hätte jedoch noch folgendes einwenden können:

Nach Verfütterung von racemischer Mandelsäure tritt im Harn linksdrehende Mandelsäure auf. Diese kann dadurch entstanden sein, daß die racemische Mandelsäure zu Benzoylameisensäure oxydiert wird, und wiederum aus Benzoylameisensäure linksdrehende Mandelsäure entsteht:

Racem. Mandelsäure ⟶ Benzoylameisensäure ⟶ linksdr. Mandelsäure

Für diese Reaktionsfolge spricht der Umstand, daß nach Verfütterung von Benzoylameisensäure auch linksdrehende Mandelsäure entsteht[8]).

Um diesem Einwand begegnen zu können, kam ich auf den Gedanken, daß getrennte Verfütterung von linksdrehender und rechtsdrehender Mandelsäure zur endgültigen Klärung dieser Frage beitragen müsse. Falls dabei die rechtsdrehende Mandelsäure stärker im Organismus abgebaut wird als die linksdrehende, so würde das sehr dafür sprechen, daß die im Harn beobachtete linksdrehende Mandelsäure nicht durch optisch aktive Reduktion aus Benzoylameisensäure gebildet wird, sondern aus racemischer Mandelsäure durch stärkeren Abbau der rechtsdrehenden Form.

Die rechtsdrehende Mandelsäure wurde über das Cinchonin-Salz nach der Vorschrift von E. Rimbach[10] dargestellt. Sie enthielt auf Grund der spezifischen Drehung 98% rechtsdrehende Mandelsäure. — Die linksdrehende Mandelsäure wurde aus Amygdalin nach der Vorschrift von K. Freudenberg und L. Markert[11] gewonnen. Sie enthielt auf Grund der spezifischen Drehung 96% linksdrehende Mandelsäure.

A. Verfütterung von rechtsdrehender Mandelsäure.

98%ig ($[\alpha]_D = +150^0$; 4% Racemat).

Ein erwachsener Mensch erhielt 7,5 g des Präparates (7,35 g rechtsdrehender Mandelsäure) als Ammoniumsalz, in zwei Portionen innerhalb 12 Stunden. Der Harn wurde $2^1/_2$ Tage (nach Beginn der Einnahme) gesammelt. Seine Menge betrug 2800 ccm.

Die Drehung im 2 dm-Rohr betrug: $\alpha = +0{,}47^0$. Würde diese Drehung ausschließlich der Funktion von rechtsdrehender Mandelsäure zuzuschreiben sein, dann wäre in der Gesamtmenge des Harnes (2800 ccm) 4,2 g rechtsdrehende Mandelsäure vorhanden; d. h. 57% der verfütterten Menge (7,35 g).

Der gesamte Harn wird nun zwecks Erleichterung der Extraktion im Vakuum auf 500 ccm eingedampft, dann stark angesäuert und mit

[10] Chem. Ber. **32**, 2385 (1899). — [11] Ebenda **58**, 1757 (1925).

Äther erschöpfend extrahiert. Nach dieser erschöpfenden Extraktion dreht der extrahierte Harn nach links (!). Im 2 dm-Rohr ist $\alpha = -0.37^0$. Unter der Annahme, daß die Linksdrehung durch linksdrehende Phenylaminoessigsäure verursacht wird, würde eine Menge von etwa 0.55 g dieser Säure anzunehmen sein.

Der Ätherextrakt wird auf ein Volum von 500 ccm gebracht:

a) 100 ccm Ätherextrakt, entsprechend 560 ccm Harn, werden eingedampft und in etwa 100 ccm Wasser gelöst. Zu der filtrierten Lösung werden etwa 5 ccm 10%ige Salzsäure und etwa 1 g Phenylhydrazin gegeben. Das Hydrazon wird nach einigen Stunden abgesaugt, gewaschen, getrocknet und gewogen. Seine Menge ist 340 mg, entsprechend 212,5 mg CO-Säure (Fp. 160° C). Danach sind in der Gesamtmenge (2800 ccm) 1,06 g Benzoylameisensäure, d. h. 14,2% der verfütterten Menge (7,5 g).

b) 20 ccm Ätherextrakt, entsprechend 112 ccm Harn, werden eingedampft, in 20,0 ccm Wasser gelöst und filtriert. Im 2 dm-Rohr polarisiert ist $\alpha = +2.97^0$; entsprechend 190 mg rechtsdrehender Mandelsäure ($[\alpha]_D = -156.5^0$). In der gesamten Menge (2800 ccm) sind demnach 4.75 g rechtsdrehende Mandelsäure = 64,6% der verfütterten (7,35 g).

B. Verfütterung von linksdrehender Mandelsäure.

96%ig ($[\alpha]_D = -144^0$; 8% Racemat).

Ein erwachsener Mensch erhielt 7,5 g des Präparates (7,2 g linksdrehende Mandelsäure) als Ammoniumsalz innerhalb 7 Stunden. Der Harn wurde $2^1/_2$ Tage (nach Beginn der Einnahme) gesammelt. Seine Menge betrug 3650 ccm.

Die Drehung im 2 dm-Rohr $\alpha = -0,45^0$. Würde diese Drehung ausschließlich der Funktion von linksdrehender Mandelsäure zuzuschreiben sein, dann würde in der Gesamtmenge des Harnes (3650 ccm) 5,27 g linksdrehende Mandelsäure vorhanden sein; d. h. 75% der verfütterten Menge (7,2 g). Wie gleich gezeigt wird, findet sich aber außer der linksdrehenden Mandelsäure noch eine geringe Menge anderer linksdrehender Substanz, die mit Äther nicht extrahierbar ist (vermutlich linksdrehende Phenylaminoessigsäure).

Der gesamte Harn (3650 g) wird zwecks Erleichterung der Extraktion im Vakuum auf 700 ccm eingedampft, danach stark angesäuert und mit Äther erschöpfend extrahiert. Nach dieser erschöpfenden Extraktion dreht der Harn aber immer noch etwas nach links. Zur besseren polarimetrischen Ablesung wird der Harn bis auf 30 ccm eingedampft, nochmals mit Äther extrahiert und mit Tierkohle entfärbt. Im 2 dm-Rohr ist $\alpha = -0.40^0$; unter der Annahme, daß diese Linksdrehung durch linksdrehende Phenylaminoessigsäure verursacht wird, würde eine Menge von etwa 40 mg dieser Säure ($[\alpha_D] = -160^0$) anzunehmen sein.

Der Ätherextrakt wird auf ein Volum von 500 ccm gebracht:

a) 100 ccm Ätherextrakt, entsprechend 730 ccm Harn, werden eingedampft und in etwa 100 ccm Wasser gelöst. Zu der filtrierten Lösung werden etwa 5 ccm 10%ige Salzsäure und etwa 1 g Phenylhydrazin zugefügt. Das Hydrazon wird nach einigen Stunden abgesaugt, gewaschen, getrocknet und gewogen. Seine Menge beträgt 176 mg, entsprechend 110 mg CO-Säure (Fp. 160° C). Danach sind in der Gesamtmenge des Harnes (3650 ccm) 0,55 g Benzoylameisensäure anzunehmen, d. h. 7,3% der verfütterten Mandelsäure (7,5 g).

b) 15 ccm Ätherextrakt, entsprechend 108.5 ccm Harn, werden eingedampft, in 20,0 ccm Wasser gelöst und filtriert. Im 2 dm-Rohr ist $\alpha = -2{,}45^0$, entsprechend 157 mg linksdrehender Mandelsäure ($[\alpha]_D = -156{,}6^0$). In der Gesamtmenge des Harnes (3650 ccm) sind demnach 5,23 g linksdrehende Mandelsäure, d. h. 72,6% der verfütterten (7,2 g).

In folgender Tabelle sind die Verfütterungsergebnisse am Menschen mit racemischer Mandelsäure und den optisch aktiven Mandelsäuren gewichtsmäßig und prozentual gegenübergestellt:

Verfüttert	Linksdrehende Mandelsäure: 7,5 g	Racemische Mandelsäure: 24 g		Rechtsdrehende Mandelsäure: 7,5 g
		linksdrehender Anteil: 12 g	rechtsdrehender Anteil: 12 g	
Ausgeschieden: linksdrehende Mandelsäure	5,23 g = 72,6%	9,19 g = 76,6%	—	—
rechtsdrehende Mandelsäure	—	—	8,06 g = 67,2%	4,75 g = 64,6%
racemische Mandelsäure	—	16,12 g = 67,2%		—
Benzoylameisensäure	0,55 g = 7,3%	3,13 g = 13,0%		1,06 g = 14,2%
Benzoesäure	über die Norm vermehrt			

Hieraus ergibt sich:

1. Die linksdrehende Mandelsäure wird unzweifelhaft weniger im Organismus angegriffen als die rechtsdrehende (Ausscheidung: 72,6% linksdrehende und 64,6% rechtsdrehende Mandelsäure).

2. Das prozentuale Mengenverhältnis der im Harn ausgeschiedenen Säuren ist — einerseits nach Verfütterung der optisch aktiven Mandelsäuren, andererseits nach Verfütterung eines Gemisches von rechtsdrehender + linksdrehender Mandelsäure (= Racemat) recht gut übereinstimmend:

a) Linksdrehende Mandelsäure (allein) wird zu etwa 73% unverändert ausgeschieden, linksdrehende Mandelsäure (im Racemat) wird zu etwa 77% unverändert ausgeschieden.

b) Rechtsdrehende Mandelsäure (allein) wird zu etwa 65 % unverändert ausgeschieden, rechtsdrehende Mandelsäure (im Racemat) wird zu etwa 67 % unverändert ausgeschieden.

c) Linksdrehende Mandelsäure (allein) bildet 7,3 % Benzoylameisensäure, rechtsdrehende Mandelsäure (allein) bildet 14,2 % Benzoylameisensäure; durchschnittlich bilden beide zusammen 11 % Benzoylameisensäure; linksdrehende + rechtsdrehende (= racemische) Mandelsäure bilden 13 % Benzoylameisensäure.

Somit darf als sicher angenommen werden, daß die im Harn beobachtete linksdrehende Mandelsäure aus racemischer Mandelsäure durch stärkeren Abbau (bzw. Aminierung, s. unten) der rechtsdrehenden Form gebildet wird.

O. Neubauer glaubte, seine Thesen durch weitere Versuchsergebnisse, und zwar mit den optisch aktiven Aminosäuren stützen zu können, wobei er jedoch von einer irrigen Annahme ausging.

Er hatte folgende Feststellungen gemacht:

1. Nach Verfütterung von rechtsdrehender Phenylaminoessigsäure fand er im Harn keine unveränderte Phenylaminoessigsäure, jedoch eine relativ große Menge linksdrehender Mandelsäure, neben Benzoylameisensäure und Benzoesäure.

2. Nach Verfütterung von linksdrehender Phenylaminoessigsäure fand er im Harn sehr viel unveränderte Phenylaminoessigsäure neben sehr geringen Mengen von Benzoylameisensäure und Benzoesäure.

Wie gesagt, glaubte O. Neubauer durch diese Resultate den Begriff der optisch aktiven Reduktion bekräftigen zu können, da er im Jahre 1909 und sogar 1928 [12] noch der Ansicht war, daß die linksdrehende Phenylaminoessigsäure der linksdrehenden Mandelsäure bzw. die rechtsdrehende Aminosäure der rechtsdrehenden Oxysäure stereochemisch entspräche. Auf Grund dieser Annahme konnte sich Neubauer die Entstehung der linksdrehenden Mandelsäure nach Verfütterung von rechtsdrehender Phenylaminoessigsäure nur durch optisch aktive Reduktion der Benzoylameisensäure erklären. Heute wissen wir aber, daß das stereochemische Verhältnis genau umgekehrt ist: Die rechtsdrehende Phenylaminoessigsäure entspricht der linksdrehenden Mandelsäure. Diese Tatsache läßt den Schluß zu, daß die optisch aktive Phenylaminoessigsäure wohl eher direkt zu der stereochemisch entsprechenden Oxysäure abgebaut wird, ohne erst den komplizierten Prozeß der oxydativen Desaminierung und optisch aktiven Reduktion durchzumachen. Die hydrolytische Desaminierung wäre — zum mindesten in diesem Falle — als der natürlichere und ungezwungene Abbauweg anzusehen.

---

[12] Handb. d. norm. u. pathol. Physiol. V, S. 782—783.

In diesem Zusammenhang seien noch einige wichtige Beobachtungen erwähnt, die von uns bei fast allen Versuchen gemacht wurden: Nach erschöpfender Äther-Extraktion des Harnes fand sich eine linksdrehende Substanz im extrahierten Harn, die höchstwahrscheinlich linksdrehende Phenylaminoessigsäure darstellt, die mit Äther nicht extrahierbar ist.

Linksdrehende Phenylaminoessigsäure fand sich nach Verfütterung von:

1. rechtsdrehender Mandelsäure = etwa 7,3%,
2. linksdrehender Mandelsäure = Spuren (etwa 0,6%),
3. racemischer Mandelsäure etwa 4% = etwa 8% des rechtsdrehenden Anteils,
4. Benzoylameisensäure = etwa 7%.

Zu 1. Nach Verfütterung von rechtsdrehender Mandelsäure fand sich bedeutend mehr von dieser Substanz als nach Verfütterung von linksdrehender Mandelsäure. Dieser Befund wäre leicht zu erklären: Da die rechtsdrehende Mandelsäure stereochemisch der linksdrehenden Phenylaminoessigsäure entspricht, kann man eine relativ gute Ausbeute an linksdrehender Aminosäure erwarten; ferner wird nach Versuchen von O. Neubauer diese Säure im Organismus kaum angegriffen.

Zu 2. Nach Verfütterung von linksdrehender Mandelsäure müßte nun eigentlich die ihr stereochemisch entsprechende rechtsdrehende Phenylaminoessigsäure gebildet werden. Tatsächlich wurde aber von mir nur eine geringe Linksdrehung festgestellt. Auch dies ist durchaus erklärlich: Nach Versuchen von O. Neubauer wird die rechtsdrehende Phenylaminoessigsäure im Organismus völlig abgebaut, also wohl auch nicht gebildet. Ferner war die von mir eingenommene linksdrehende Mandelsäure nur zu 96% rein, sie enthielt offenbar 4% rechtsdrehende Mandelsäure, die die Ursache für die Bildung einer geringen Menge linksdrehender Phenylaminoessigsäure sein dürfte.

Zu 3. Da sich nach Verfütterung von racemischer Mandelsäure (eigene Bestimmung) auch etwa 4% linksdrehender Phenylaminoessigsäure findet, ist auf Grund der Ergebnisse von 1 und 2 (s. oben) anzunehmen, daß diese dem rechtsdrehenden Mandelsäureanteil entstammt, also 8% des rechtsdrehenden Anteils darstellt.

Zu 4. Nach Verfütterung der entsprechenden Ketosäure, Benzoylameisensäure, findet sich ebenfalls linksdrehende Phenylaminoessigsäure. Auch in diesem Falle muß sie aus rechtsdrehender Mandelsäure entstanden sein. Man muß annehmen, daß zuerst racemische Mandelsäure entsteht, deren Linksanteil unverändert ausgeschieden wird, während der Rechtsanteil zur Synthese der linksdrehenden Phenylaminoessigsäure dient.

Auf Grund obiger Feststellungen könnte man sich den Abbau der d, l-α-Phenylaminoessigsäure folgendermaßen vorstellen:

1. Der rechtsdrehende Anteil wird fast quantitativ über die „stabilere" linksdrehende Mandelsäure, Benzoylameisen-

säure und Benzoesäure abgebaut. (O. Neubauer erhielt nach Verfütterung von rechtsdrehender Phenylaminoessigsäure eine relativ große Menge linksdrehender Mandelsäure, neben Benzoylameisensäure und Benzoesäure.)

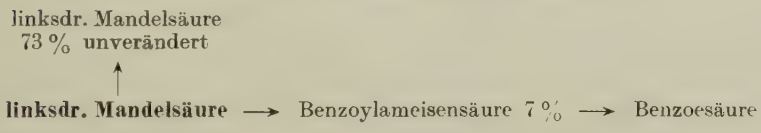
2. Der linksdrehende Anteil wird nur in geringem Maße über die „labilere" rechtsdrehende Mandelsäure, Benzoylameisensäure und Benzoesäure abgebaut. (O. Neubauer erhielt nach Verfütterung von linksdrehender Phenylaminoessigsäure keine rechtsdrehende Mandelsäure, jedoch geringe Mengen von Benzoylameisensäure und Benzoesäure.)

Auf Grund der Verfütterungsergebnisse ist meines Erachtens der Abbau der Säuren nach folgendem Schema anzunehmen: (Der besseren Übersicht halber ist die Reihenfolge von links nach rechts:

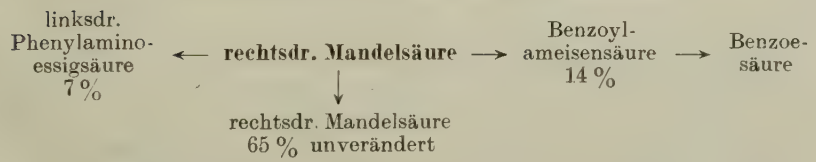
Aminosäure ⇄ Oxysäure ⇄ Ketosäure ⇄ Fettsäure

stets beibehalten worden. Die jeweils verfütterte Substanz ist fettgedruckt. Die eingesetzten Werte sind im Versuch gefunden; der eingeklammerte Wert (Abbauschema IV) ist theoretisch anzunehmen.)

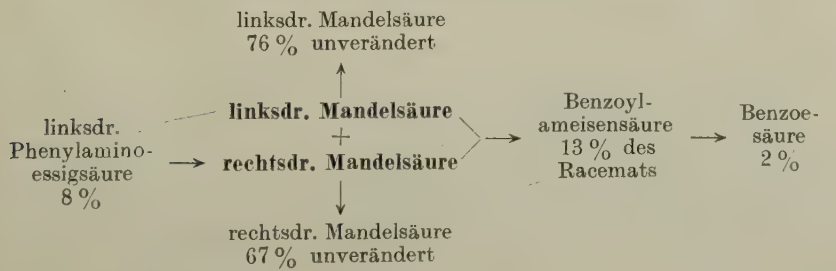
I. Abbauschema der linksdrehenden Mandelsäure.



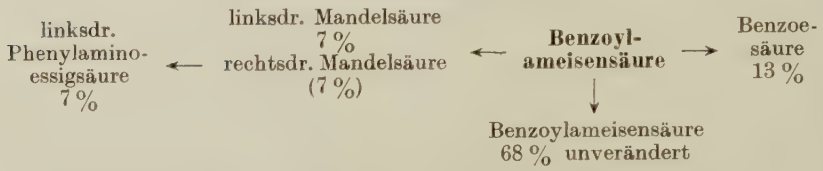
II. Abbauschema der rechtsdrehenden Mandelsäure.



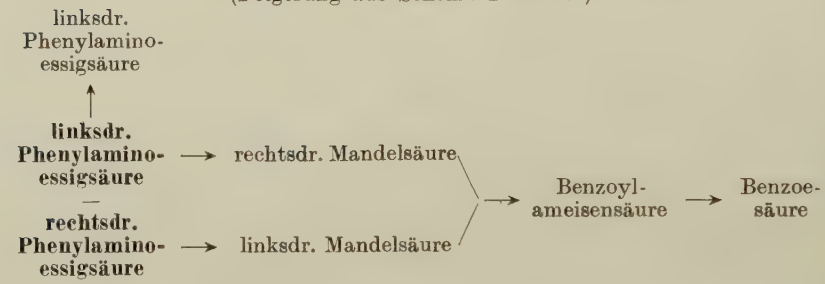
III. Abbauschema der racemischen Mandelsäure.
(Folgerung aus Schema I und II.)



IV. Abbauschema der Benzoylameisensäure.
(Folgerung aus Schema III.)



V. Abbauschema der d, l-α-Phenylaminoessigsäure.
(Folgerung aus Schema I bis IV.)



In diesem, durch unsere Versuche weitgehend gestützten Schema für den Abbau der Mandelsäure und der Phenylaminoessigsäure ist demnach kein Raum für eine oxydative Desaminierung. Nachdem die ersten und für die Annahme einer oxydativen Desaminierung grundlegenden Versuche von Neubauer nicht bestätigt werden konnten, und die praktischen Versuchsergebnisse am Menschen, wie besonders die Arbeiten von Kotake zeigen[13], mit der Theorie nicht oder nur zum Teil übereinstimmen, scheint es berechtigt, auch beim Studium des Abbaus der (d-) Aminosäuren der Vorstellung der oxydativen Desaminierung kritisch gegenüberzutreten. Wenn man auch nicht berechtigt ist, das Verhalten des Phenylglykokolls ohne weiteres zu verallgemeinern — wie es Neubauer seinerzeit auf Grund seiner irrtümlichen Versuche tat —, so dürfte nunmehr doch in jenen Fällen, bei denen die Isolierung der entsprechenden Ketonsäuren nicht oder nicht in genügenden Ausbeuten gelingt, die hydrolytische Desaminierung wieder mit Recht diskutiert werden können.

[13] Hoppe-Seylers Z. **122**, 155 (1922).

Aus dem Hauptlaboratorium der Schering A.-G. Berlin.

Einiges über Spasmolytica.

Von

K. Junkmann.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 19. April 1940.)

Vor einiger Zeit konnte darauf hingewiesen werden, daß gewissen alkylsubstituierten Essigsäureamiden starke spasmolytische Eigenschaften zukommen (2). Diese Feststellung hat zu dem Präparat Jucundal geführt, das sich inzwischen auch klinisch bewährt hat, dem aber ein Nachteil anhaftet, auf den schon damals hingewiesen wurde. Für einen ausreichenden spasmolytischen Effekt sind nämlich am Menschen erheblich größere Gaben erforderlich als man nach den Versuchen an überlebenden Organen erwartet hätte. Dies wurde mit der naheliegenden Annahme erklärt, daß die in Wasser fast unlöslichen, in lipoiden Lösungsmitteln dagegen außerordentlich leicht löslichen substituierten Acetamide durch das Körperfett gewissermaßen ausgeschüttelt werden und daß sich so ein großer Teil der verabreichten Menge dieser Stoffe seiner therapeutischen Bestimmung entzieht. In Anbetracht der besonders guten allgemeinen Verträglichkeit der alkylsubstituierten Essigsäureamide konnte dieser Nachteil hinsichtlich der Wirksamkeit durch Anwendung genügend hoher Dosen ausgeglichen werden. Immerhin bedeutete dies aber mindestens eine Unbequemlichkeit beim Einnehmen und wirkte sich auch ungünstig auf den Preis einer derartigen Behandlung aus. Wir waren daher bestrebt, diese Mängel durch chemische Variationen in dieser Körperklasse zu beheben und stießen dabei auf die durchschnittlich noch besser als die entsprechenden Acetamide wirksamen homologen primären Amine, die man sich ja durch Reduktion aus den zugehörigen Essigsäureamiden entstanden denken kann. Sie sind durch Reduktion der jeweiligen Nitrile, durch deren Verseifung man bekanntlich zu den Säureamiden gelangt, leicht zugänglich. Es handelt sich bei den Aminen im Gegensatz zu den früher untersuchten Säureamiden um ausgesprochen basische Stoffe, die neutrale Chlorhydrate bilden. Die letzteren sind in Wasser durchschnittlich schwer, in Alkohol dagegen leicht löslich, während die freien Basen praktisch unlöslich in Wasser sind.

Die Feststellung der spasmolytischen Wirksamkeit dieser Amine erfolgte in der gleichen Weise, die ich auch bei der Untersuchung der Acetamide angewendet habe (2). Benutzt wurden zunächst durchgehend die Chlorhydrate; soweit sie nicht genügend wasserlöslich waren, wurden sie in alkoholischer Lösung angewendet, wobei darauf geachtet wurde, die

Alkoholzusätze so klein zu halten, daß dadurch keine Fälschung der Versuchsergebnisse entstehen konnte. Für die Vergleichsversuche diente der überlebende Kaninchendarm nach Magnus, der bei 38° in zuckerfreier Tyrodelösung mit einem Zusatz von $1^0/_{00}$ $BaCl_2$ gehalten wurde. Dadurch wurde eine Dauerkontraktur ohne gleichzeitige störende Pendelbewegungen erreicht. Das Ausmaß einer spasmolytischen Wirkung wurde im Vergleich mit der Wirkung einer Standardsubstanz (in unserem Falle p-Aminobenzoesäurediäthylaminoäthanolester HCl) mit untermaximalen Gaben der einzelnen Aminchlorhydrate ermittelt. Die Ergebnisse solcher Vergleichsversuche werden in der nachstehenden Tabelle 1 zusammengefaßt. Zum Vergleich werden auch die früher für die homologen Acetamide ermittelten Werte mitangegeben. Die Stärke der spasmolytischen Wirksamkeit ist in Vielfachen der Wirkung von p-Aminobenzoesäurediäthylaminoäthanolester HCl, letzteres gleich 1 gesetzt, angegeben.

Tabelle 1.

Substanz	Spasmolytische Wirksamkeit, p-Aminobenzoesäurediäthylaminoäthanolester = 1	
	-acetamid	-äthylamin
Diäthyl-		
Diäthyl-methyl-	0,25	
Triäthyl-	0,50	7,0
Diäthyl-n-propyl-	1,50	
Diäthyl-n-butyl-	5,00	
Diäthyl-n-hexyl-	15,00	120,0
Di-n-propyl-	0,85	
Di-n-propyl-methyl-	1,80	
Di-n-propyl-äthyl-	6,00	
Tri-n-propyl-	16,00	50,0
Di-n-propyl-n-butyl-	75,00	
Di-n-butyl-äthyl-	10,00	200,0
Di-n-butyl-n-propyl-	87,00	
Tri-n-butyl-	100,00	300,0
Di-i-amyl-äthyl-	150,00	200,0
Tri-i-amyl-	100,00	300,0
Di-n-hexyl-		150,0
Di-n-hexyl-methyl-	100,00	
Tri-n-hexyl-	0,00	
Diallyl-	0,20	
Diallyl-methyl-	0,50	
Diallyl-äthyl-	2,00	
Diallyl-n-propyl-	6,00	
Diallyl-i-propyl-	3,00	
Tri-allyl-	2,80	
Diallyl-n-butyl-	8,00	

Um den Vergleich mit bekannten Spasmolyticis zu erleichtern, sei erwähnt, daß Papaverin HCl gegen unsere Vergleichssubstanz ausgewertet

80 ergibt. Die in der Tabelle 1 angeführten Wirkungszahlen ergeben also durch 80 dividiert das Wirkungsverhältnis der einzelnen Stoffe gegenüber Papaverin HCl an. Es ergibt sich, daß die homologen Äthylamine im Durchschnitt stärker wirksam sind als die entsprechenden Acetamide. Dabei scheint sich der Gang der Wirksamkeit innerhalb der einzelnen chemischen Gruppen ähnlich zu verhalten wie bei den Acetamiden.

Für den praktischen Gebrauch wurde aus dieser Reihe von substituierten Äthylaminen das Tri-n-butyläthylamin

$$\begin{array}{l} CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \\ CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 — C \cdot CH_2 \cdot NH_2 \\ CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \end{array}$$

ausgewählt und deshalb näher untersucht. Es zeigte sich dabei, daß diese Substanz auch am normalen, also nicht durch $BaCl_2$ kontrahierten Ka-

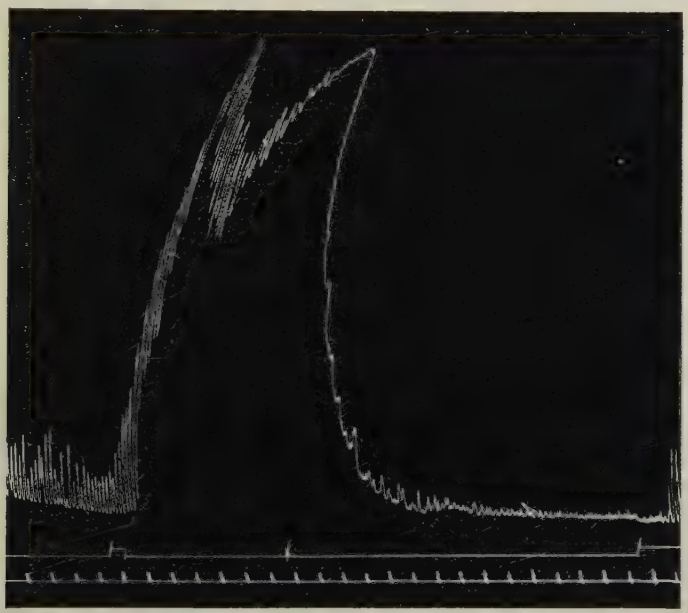


Abb. 1. Physostigmin 1 : 400000, Tributylaethylamin 1 : 400000. — Waschen.

ninchendarm stark spasmolytisch wirksam ist. Die wirksamen Schwellenkonzentrationen liegen hier bei 1 : 500000 bis 1 : 1500000. Die Wirkung tritt bei niedrigen Konzentrationen relativ langsam ein. Sie ist aber recht nachhaltig. Mehrfaches Auswaschen führt jedoch auch nach Einwirken höherer Konzentrationen zur Wiederherstellung der Pendelbewegungen. Sofern der normale Darm von sich aus in höherer Tonuslage arbeitet, was im Beginn des Versuchs ja meist der Fall ist, wird durch die Schwellen-

konzentrationen nur der Tonus gesenkt und die Pendelbewegungen nur unwesentlich oder gar nicht verkleinert. Höhere Gaben führen neben der Abnahme des Tonus auch zu zunehmender Verkleinerung der Pendelbewegungen und bringen sie schließlich zum Verschwinden.

Auch an anderen glattmuskeligen Organen (Ductus deferens, Uterus von Kaninchen oder Meerschweinchen) lassen sich in unwesentlich abweichender Dosierung deutliche spasmolytische Wirkungen nachweisen.

Ebenso wie der durch $BaCl_2$ erregte Darm wird auch der durch Physostigmin, Azetylcholin oder KCl kontrahierte Kaninchendarm zur Erschlaffung gebracht (vgl. Abb. 1). Auch der durch $BaCl_2$ oder Physostigmin kontrahierte Kaninchenuterus, ebenso wie der spontan oder durch Hinterlappenstoffe zur Kontraktion gebrachte Uterus des virginellen Meerschweinchens werden in gleicher Weise gehemmt.

In dem Tri-n-butyl-äthylamin lag also ein chemisch relativ einfacher Stoff mit ausgeprägten spasmolytischen Eigenschaften vor, die es wünschenswert erscheinen ließen, eine therapeutische praktische Ausnutzung herbeizuführen. Der Anwendung stand zunächst die unerwartet starke lokale Reizwirkung des Chlorhydrats hinderlich entgegen.

Lokale Wirkungen.

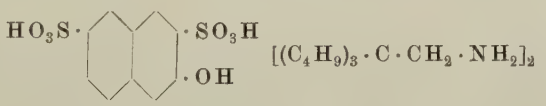
Auf den Schleimhäuten des Mundes und Rachens wirkt das Tri-n-butyl-äthylamin sehr stark brennend. Diese überaus lästige Nebenwirkung hält stundenlang an. Sie hat wohl, wenigstens teilweise, mit der relativ starken, die Oberflächenspannung Wasser - Luft herabsetzenden Eigenschaft des Chlorhydrats zu tun, die auch bei der Prüfung seiner hämolytischen Wirksamkeit zum Ausdruck kommt. An gewaschenen Kaninchenblutkörperchen ergab eine Konzentration von

1 : 16000 volle Hämolyse innerhalb 30 Minuten,
1 : 32000 partielle Hämolyse nach 24 Stunden,
1 : 64000 auch bei langer Einwirkung keine Hämolyse.

Aus diesen Versuchen erhellt nebenbei, daß die zellschädigenden Wirkungen des Chlorhydrats erst bei Konzentrationen zustande kommen, die weit über den therapeutischen Konzentrationen liegen und daß sich solche Zellschädigungen nur bei lokaler, konzentrierterer Anwendung oder bei intravenöser Injektion größerer Mengen, wobei tatsächlich eine gewisse Hämolyse auch in vivo zu beobachten ist, geltend machen. Intracutane Injektion 1‰iger Lösung am Kaninchenohr verursacht nach der Rötung und Schwellung der ersten Tage etwa am dritten Tage trockene Nekrose. Eintropfen von 0,2 ccm 1‰iger Lösung ins Kaninchenauge und Verhindern des Ausfließens durch 1 Minute verursacht ohne Trübung der Cornea erheb-

liche Chemosis. Es tritt aber auch nach Anwendung 1 %iger Lösung keine Hornhauttrübung auf. Subcutane Injektionen 1 %iger Lösung bewirken an Kaninchen, Maus und Ratte ausgedehnte Nekrosen der Injektionsstelle, die meist trocken bleiben und sich erst nach sehr langer Zeit abstoßen und dann langsam epithelisieren. Dagegen wurde die intramuskuläre Injektion von 0.5 ccm 1 %iger Lösung vom Kaninchen ohne Schmerzäußerung und ohne Funktionsstörung vertragen. Auch im weiteren Verlauf trat kein Abszeß der Injektionsstelle auf. Als Ausdruck der lokalen Reizwirkung muß auch das beim Hund und beim Menschen nach peroraler Verabfolgung des Chlorhydrats auftretende Erbrechen gewertet werden.

Auf der Suche nach lokal besser verträglichen Salzen unseres Amins ergab sich, daß auch die Salze mit den meisten bekannteren Anionen, wie Sulfat, Nitrat, Acetat, Lactat, Citrat, Phosphat, Oxalat, Tartrat und viele andere dieselbe Reizwirkung in stärkerem oder geringerem Maße besaßen. Auch die relativ schwer löslichen Salze mit Benzoesäure, Benzolmonosulfosäure oder Phthalsäure waren keineswegs genügend reizlos. Dagegen waren die Salze mit mehrkernigen aromatischen Sulfosäuren (Anthrachinon-mono-sulfosäuren, Naphthol-di-sulfosäuren) praktisch vollkommen geschmack- und reizlos. Von den nach diesen Versuchen in Frage kommenden Salzen wurde das β-naphthol-3, 6-disulfosaure Tri-n-butyläthylamin



für die weiteren Versuche ausgewählt. Das Salz ist in kaltem Wasser, ebenso wie in siedendem überaus schwerlöslich. Dagegen ist es in warmem Alkohol relativ gut löslich. Es bildet ein schwach gelbliches, feinkristallines Pulver und schmilzt oberhalb 300°. Lösung und Resorption erfolgen bei ihm anscheinend so langsam, daß sich nirgends schädliche Konzentrationen bilden können. Dafür spricht auch das Ausbleiben von Erbrechen selbst nach größeren Gaben beim Menschen, so daß man annehmen muß, daß die theoretisch immerhin denkbare Umwandlung in das Chlorhydrat im Magen nur so langsam stattfindet, daß es nicht zur Reizung der Schleimhaut und reflektorischem Erbrechen kommen kann. Einstreuen der festen Substanz in das Kaninchenauge wird ohne jede Schädigung ertragen, es sei denn, daß man eine geringfügige Rötung, die sicherlich der mechanischen Reizung durch die Kristalle zuzuschreiben ist, als eine solche auffassen wollte. Es war somit ein geeignetes Salz gefunden, dessen gute lokale Verträglichkeit weitere Versuche erst aussichtsreich machte. Es sei betont, daß auch das β-naphthol-3, 6-disulfosaure Tri-n-butyläthylamin an überlebenden Organen durchaus die gleichen guten spasmolytischen Wirkungen aufweist wie das entsprechende Chlorhydrat. Die erforderlichen Konzentrationen sind von derselben Größenordnung.

Verträglichkeit.

Wenn man von den Reizwirkungen ungeeigneter Salze absieht, so zeichnet sich das Tri-n-butyl-äthylamin durch eine sehr gute allgemeine Verträglichkeit aus. Die schädlichen Wirkungen des Chlorhydrats scheinen mehr durch die lokalen Schädigungen als durch resorptiv toxische Wirkungen bedingt zu sein. Immerhin wurden aber auch von dem Chlorhydrat 100 mg je kg vom Kaninchen per os vertragen. 120 mg je kg subcutan, waren jedoch nach relativ langer Zeit, anscheinend als Folge der Sekundärinfektion der ausgedehnten Hautnekrose tödlich. Fütterung von 100 mg je kg an je 2 aufeinanderfolgenden Tagen tötete ein Tier in 3 Tagen, wobei Darmblutungen und geringe Verfettung der Nierenrinde und der Leber, jedoch ohne pathologischen Harnbefund, beobachtet wurden. Das zweite Tier starb erst 6 Wochen nach der Fütterung. Die bei diesem Tier gefundene Hepatitis möchte ich als Folge der lokalen Darmwandschädigung auffassen. Beim Hund bewirken 60 mg je kg von dem Chlorhydrat Erbrechen.

Im Gegensatz zu dem Verhalten des Chlorhydrats ist die Verabfolgung der β-naphthol-3, 6-disulfosauren Tri-n-butyläthylamins sehr gut verträglich. Bei einmaliger peroraler Darreichung in Gummiemulsion wurden folgende Gaben geprüft (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2.

mg je kg Kaninchen per os	Lebt nach Tagen	Tot nach Tagen	mg je kg Kaninchen per os	Lebt nach Tagen	Tot nach Tagen
32	22		128	22	
32		4 Pleuritis	128	22	
32	22		128	22	
32	22		256	22	
64	22		256	22	
64	22		256		15 Pleuritis
64	22				

Die beiden Todesfälle gehen zu Lasten von spontanen Infektionen. Akute Wirkungen irgendwelcher Art kamen nicht zur Beobachtung. Im Harn wurde während der Beobachtungszeit nie Zucker, Eiweiß, Urobilinogen oder ein pathologischer Sedimentbefund gefunden. Auch das Körpergewicht der Tiere zeigte keine über das übliche hinausgehenden Schwankungen. Nach Abschluß des Versuchs waren alle Tiere in gutem Allgemeinzustand.

An Ratten wurden vergleichende Versuche mit Fütterung des Chlorhydrats einerseits und des β-naphthol-3, 6-disulfosauren Salzes andererseits angestellt und die Tiere 3 Wochen lang beobachtet. Es wurden für jede Dosis 5 Tiere eingesetzt. Die Anzahl der Todesfälle bei den einzelnen Dosen geht aus der Tabelle 3 hervor.

Tabelle 3.

g je kg Ratte per os	β-Naphthol-3,6-disulfosaures Tri-n-butylamin	Tri-n-butylamin HCl	g je kg Ratte per os	β-Naphthol-3,6-disulfosaures Tri-n-butylamin	Tri-n-butylamin HCl
2,00	2/5		0,128	0/5	4/5
1,00	0/5		0,064		3,5
0,512	3/5	4/5	0,032		2/5
0,256	0/5	5/5			

Schließlich wurden noch eine Anzahl von Kaninchen mit täglichen peroralen Gaben des β-naphtholdisulfosauren Tri-n-butyläthylamins behandelt, um die chronische Verträglichkeit festzustellen. Siehe nachstehende Tabelle 4.

Tabelle 4.

mg je kg Kaninchen täglich per os	Gewicht am		Dauer der Fütterung	Beobachtungszeit seit Fütterungsbeginn
	Beginn	Ende		
62,5	2,2	2,0	6	6 tot, Pleuritis
62,5	2,0	2,1	45	70 lebt
62,5	2,0	2,0	30	64 „
62,5	2,7	2,8	45	70 „
100,0	2,2	2,5	61	86 „
100,0	2,3	2,4	46	69 „
100,0	2,6	2,0	11	11 tot, verletzt

Der eine Todesfall ist eine Spontaninfektion, der zweite entstand durch Verletzung bei der Sondenfütterung. Auch bei diesen chronisch gefütterten Tieren wurde im Harn weder Zucker, Eiweiß oder Urobilinogen, noch irgendein pathologischer Sedimentbefund beobachtet. Bemerkt sei, daß auch das Blutbild und der Hämoglobingehalt des Blutes sich während der ganzen Beobachtungszeit normal verhielten.

Zwei Hunde erhielten durch 28 Tage täglich 10 mg je kg per os. Außer geringfügiger Gewichtsabnahme zeigte sich nichts Pathologisches. Je ein Hund erhielt außerdem einmalig 0,512 und 0,064 g je kg per os ohne irgendwelche Allgemeinerscheinungen oder Temperatursenkung zu zeigen. Auch der Harnbefund war hier normal. Menschen ertrugen im Selbstversuch ohne irgendwelche unangenehmen Erscheinungen 200 bzw. 450 mg als einmalige Gabe. Dagegen zeigte eine Versuchsperson, die an aufeinanderfolgenden Tagen 15, 30, 60, 120 und 240 mg des Chlorhydrats eingenommen hatte, nach der letzten Gabe Übelkeit und Erbrechen. Eine zweite Versuchsperson nahm 2, 5, 10, 20, 40, 80, 160 mg Chlorhydrat pro Tag an aufeinanderfolgenden Tagen und äußerte nach der letzten Dosis Unruhe und Unbehagen, jedoch ohne Erbrechen. Schädliche Nachwirkungen traten jedoch auch hier nicht auf.

Resorption.

Die bessere Verträglichkeit des β-naphthol-3, 6-disulfosauren Salzes gegenüber dem Chlorhydrat des Tri-n-butyläthylamins ist nicht etwa durch eine mangelhafte Resorption des schwer wasserlöslichen Salzes verursacht. Die Resorption erfolgt wohl langsamer und es entstehen daher nirgends lokal reizend wirkende Konzentrationen, aber sie erfolgt in durchaus ausreichendem Ausmaß. So wurden in dem nach Verabfolgung von 512 mg je kg an einen 16 kg schweren Hund innerhalb 24 Stunden anfallendem Kot von dem im ganzen gegebenen 8,5 g β-naphtholdisulfosauren Tributyläthylamin durch alkalisches Ausäthern, Aufnehmen in salzsaurem Wasser und Fällen mit β-naphthol-3, 6-disulfosaurem Natrium nur 120 mg wiedergefunden. Wenn auch zugegeben werden muß, daß die Methode der Isolierung nicht quantitativ arbeitet, so zeigt der Versuch doch, daß mindestens die Hauptmenge dieser recht großen Gabe tatsächlich resorbiert worden ist. Im Harn desselben Hundes konnte kein Tributyläthylamin nachgewiesen werden. Es scheint demnach im Stoffwechsel ziemlich weitgehend zerstört zu werden. Der Nachweis des Anions im Harn gelang nicht, da die durch Kupplung an Diazobenzolsulfosäure erhältliche Färbung zu uncharakteristisch ist, um neben den sonstigen Phenolen des Harns identifiziert werden zu können. Trotz der am isolierten Organ relativ nachhaltigen Wirkung des Tributylamins ist also, wie diese Versuche und schließlich auch die Versuche mit chronischer Fütterung beweisen, mit keiner nennenswerten Kumulationsgefahr selbst bei längerdauernder Anwendung zu rechnen.

Kreislaufwirkung.

Intravenöse Injektionen von Lösungen des Chlorhydrats verursachen am Kaninchen eine deutliche Blutdrucksenkung. Die Schwellendosis liegt bei etwa 0,25 ccm $1^0/_{00}$iger Lösung pro Tier. 1 ccm $1^0/_{00}$iger Lösung macht schon eine recht erhebliche Drucksenkung, die aber nicht allzu lange anhält. Die Drucksenkung wird durch Atropin nicht aufgehoben. Andererseits lähmt das Tributyläthylamin selbst den Vagus auch in recht großen Gaben nicht. Die Blutdrucksenkung ist etwa 10mal so stark wie die durch Coffeinbase, das heißt mit 10mal kleineren Gaben des Tributyläthylaminchlorhydrats werden gleichstarke Drucksenkungen erzielt. Am Straubherzen wirken Konzentrationen von 1 : 100000 hemmend. Am Froschherzen im künstlichen Kreislauf bei Ringerdurchströmung mit 2 cm Anfangsdruck und 20 cm Überdruck verursachte 1 : 200000 geringe reversible Leistungsminderung und mäßige Frequenzabnahme. An den überlebenden Gefäßen des Kaninchenohres konnten bisher jedoch keine erweiternden Wirkungen festgestellt werden. Versuche an künstlich verengerten Gefäßen stehen noch aus. Außerdem muß bemerkt werden, daß die Gefäße der mir bisher zur Verfügung stehenden Ohrpräparate auch nicht auf Theophyllin, dessen gefäßerweiternde Wirkung mir aus früheren

Versuchen geläufig war, ansprachen. Vorbehaltlich einer weiteren Prüfung dieser Frage möchte ich also mit aller Reserve die Drucksenkung durch das Tributyläthylamin als zentral bedingt auffassen. Im Zusammenhang mit den vorstehend skizzierten Befunden ist es vielleicht nicht ohne Interesse, darauf hinzuweisen, daß Buth, Külz und Rosenmund (1) an einer großen Anzahl verschiedener aralkyl- und gemischt aralkyl-alkylsubstituierter sekundärer und tertiärer Amine spasmolytische Wirksamkeit nachweisen konnten. In unseren Versuchen wird gezeigt, daß auch primären höheren Alkylaminen mit verzweigten Alkylen derartige Wirkungen in hohem Maße zukommen.

Zusammenfassung.

Die den seinerzeit untersuchten alkylsubstituierten Acetamiden homologen Äthylamine haben ebenso wie die ersteren ausgesprochen spasmolytische Eigenschaften und sind im Durchschnitt sogar stärker wirksam.

Einer praktischen Anwendung stand die starke Reizwirkung der Chlorhydrate dieser alkylsubstituierten Äthylamine entgegen. Durch Benutzung des β-naphthol-3, 6-disulfosauren Salzes konnte diese Schwierigkeit behoben werden.

Daß β-naphthol-3, 6-disulfosaure Tri-n-butyläthylamin wird eingehender untersucht. Es ist außerordentlich stark spasmolytisch wirksam und hat dabei keinerlei lokale Reizwirkungen. Es ist sehr gut allgemein verträglich und zeigt auch bei chronischer Darreichung keine Kumulationsgefahr.

Die spasmolytische Wirkung an der glatten Muskulatur der Eingeweide ist peripher bedingt, dagegen scheint die blutdrucksenkende Wirkung eher durch eine zentrale Beeinflussung der Gefäßweite verursacht zu sein. Die Substanz wirkt nicht vaguslähmend.

Die gute, auch am Menschen festgestellte allgemeine Verträglichkeit, zusammen mit der hohen spasmolytischen Wirksamkeit, läßt eine therapeutische Verwendung des β-naphthol-3, 6-disulfosauren Tri-n-butylamins aussichtsreich erscheinen.

Literatur.

1) Buth, W., F. Külz u. K. W. Rosenmund: Ber. dtsch. chem. Ges. **72**, 19 (1939); F. Külz u. K. W. Rosenmund: Ebenda, S. 2161. — 2) Junkmann, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 552 (1937).

Aus dem Hygienischen Institut der Hansestadt Hamburg (Direktor: Prof. Dr. K. Süpfle), Abteilung VI, Vorstand: Prof. Dr. L. Schwarz.

Über Phosphorwasserstoffvergiftung (Tierversuche).

I. Mitteilung: Akute und subakute Vergiftung.

Von

Dr. med. **Wilhelm Müller.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. April 1940.)

Der Phosphorwasserstoff gewinnt mit seiner Verwendung als neuzeitliches Schädlingsbekämpfungsmittel auch zunehmendes toxikologisches und hygienisches Interesse. Bereits früher beobachtete man bei anderen Gelegenheiten seine hohe Giftigkeit. So kamen Todesfälle vor auf Schiffen, die mit Phosphorcalcium verunreinigtes Ferrosilicium geladen hatten. Infolge Feuchtigkeitseinwirkung hatte sich Phosphorwasserstoff gebildet (Dold und Harris[1]). Tödliche Phosphorwasserstoffvergiftungen ereigneten sich auch beim Arbeiten mit anbrüchigen Azetylenentwicklern; denn das aus Carbid hergestellte Azetylen enthält mehr oder weniger Phosphorwasserstoff (Lewin[2], Straub[3]). Ferner wurden von Unglücksfällen durch Phosphorwasserstoffvergiftungen auf Untersee- und Torpedobooten berichtet (Nöldeke[4], Muntsch[5]). Sie kamen dadurch zustande, daß beim schußfertigen Torpedo versehentlich die Phosphorcalcium enthaltende Leuchtspitze angerissen wurde und beim Bewässern des Rohres der entstehende Phosphorwasserstoff durch das Rohr zurückschlug.

Unter den Phosphorwasserstoff entwickelnden Schädlingsbekämpfungsmitteln, z. B. Delicia, Fosfolon, Lepit, ist am wichtigsten das Deliciapräparat, ein Aluminiumphosphid, das seit einigen Jahren in sehr großem Umfange zur Bekämpfung des Kornkäfers in Getreideschüttlagern Verwendung findet. Die Anwendung des Deliciaverfahrens (Delicia-Kornkäferbegasung) unterliegt der Phosphorwasserstoffverordnung vom 6. April 1936. Bei Innehaltung aller Schutzmaßnahmen ist eine Gefährdung des Durchgasungspersonals und der Umgebung durch akute Einwirkung von Phosphorwasserstoff ausgeschlossen. Nur in der ersten Zeit der praktischen Anwendung dieses Verfahrens, als die Phosphorwasserstoffverordnung noch nicht erlassen war, sind infolge grober Fahrlässigkeit eines Durchgasungs-

[1] Dold u. Harris: Dtsch. med. Wschr., S. 252 (1909). — [2] Lewin: Med. Klin., S. 1353 (1917). — [3] Straub: Sammlung von Vergiftungsfällen **1**, A. 115 [A. 51] (1930). — [4] Nöldeke: Zit. bei Flury: Anzeiger f. Schädlingskunde **13**, 26 (1937). — [5] Muntsch: Zit. bei Zernik: Erg. Hyg., Bakt. usw. **14**, 160 (1933).

leiters mehrere Erkrankungen, darunter eine (Gessner[6]) mit tödlichem Ausgang, vorgekommen. Fraglich ist dagegen noch, ob durch länger dauernde Einatmung sehr kleiner, nicht akut giftig wirkender Mengen Phosphorwasserstoffs, wie es bei den praktischen Durchgasungsarbeiten mit Delicia nicht zu vermeiden ist, langsam einsetzende Gesundheitsschädigungen eintreten können. Diese Frage im Tierversuch zu bearbeiten, war mir als Aufgabe gestellt.

Zunächst mußten daher die ungefähren toxischen Grenzdosen für eine akute Vergiftung bei Kaninchen festgestellt und zu den von Jokote[7] und Meißner[8] ermittelten Befunden in Beziehung gesetzt werden. Ferner war es erforderlich, die Grenzkonzentrationen für die subakute Vergiftung festzulegen; außerdem sollte die etwaige Einwirkung des Phosphorwasserstoffs auf das Blut ermittelt und durch pathologisch-anatomische, insbesondere pathologisch-histologische Untersuchungen der Organe die Kenntnis der Pathologie der Phosphorwasserstoffvergiftung akuter bzw. subakuter Art gefördert werden. Im Anschluß daran sollte die langdauernde Einwirkung geringster Konzentrationen von Phosphorwasserstoff untersucht werden.

Über akute Phosphorwasserstoffvergiftungen ist im Schrifttum (Dietz[9], Flury und Zernik[10], Flury[11], Gessner[6], Dold und Harris, Hühnefeld[12], Lewin[2,13], Straub[3]) berichtet worden. Als klinische Symptome sind folgende angegeben:

Angst, Druckgefühl in der Brust, brennender und stechender Schmerz hinter dem Brustbein, sowie Schmerzen in der Zwerchfellgegend, die nach dem Rücken ziehen; starke Dyspnoe, besonders Erschwerung der Einatmung, trockener Husten ohne Blutauswurf. Ferner große Müdigkeit und Kältegefühl, Schwindel, Ohrensausen, dumpfe Kopfschmerzen, Benommenheit bzw. Ohnmachtsanwandlungen. Als Magen-Darmsymptome werden angegeben auffallend starker Durst, Übelkeit, heftiges Erbrechen mit Magenschmerzen und Durchfälle. Bei schweren Vergiftungen Muskelschmerzen, Muskelsteifigkeit und tetanische Krämpfe. Häufige Fehldiagnosen sind Tetanus, Genickstarre und Fleischvergiftung. Von seiten des Kreislaufs Pulsbeschleunigung (ohne Temperaturanstieg), Cyanose und große Herzschwäche. Exitus in tiefer Bewußtlosigkeit mit Pupillenerweiterung und unter den Symptomen des Lungenoedems.

Sehr leichte Phosphorwasserstoffvergiftungen sind gekennzeichnet durch wachsbleiche Gesichtsfarbe, Müdigkeitsgefühl, starkes wiederholtes Erbrechen und Beklemmungsgefühl unter dem Brustbein (L. Schwarz[14]).

---

[6] Gessner: Sammlg. v. Vergiftungsfällen **8**, B 13 [B 79] (1937). — [7] Jokote: Arch. Hyg. (D.) **49**, 275 (1904). — [8] Meißner: Z. exper. Med. **42**, 267 (1924). — [9] Dietz: Zit. bei Jokote: Arch. Hyg. (D.) **49**, 275 (1904). — [10] Flury u. Zernik: Schädl. Gase **1931**, S. 169. — [11] Flury: Anzeiger f. Schädlingskunde **13**, 26 (1937). — [12] Hühnefeld: Zit. bei Jokote: Arch. Hyg. (D.) **49**, 275 (1904). — [13] Levin: Gifte u. Vergiftungen (1929). — [14] Schwarz: nach persönlicher Mitteilung.

Über die chronische Vergiftung ist sehr wenig im Schrifttum bekannt. Lewin berichtet über einen Pharmazeuten, der jahrelang bei der Darstellung von Hypophosphiten (mit Phosphor und Natronlauge) Phosphorwasserstoff in geringen Konzentrationen eingeatmet hatte und als Krankheitszeichen Sehstörungen, auch akkomodativer Art, Sprach- und Gehstörungen sowie Zahnzerfall aufwies. Flury und Zernik[10] geben der Vermutung Ausdruck, daß es sich bei dieser Erkrankung nicht um reine Phosphorwasserstoffwirkung gehandelt habe.

Henderson und Haggard[15] bemerken nur, daß die chronische Phosphorwasserstoffvergiftung der chronischen Phosphorvergiftung identisch sein soll.

Exakte Tierversuche mit genau festgelegten Gaskonzentrationen wurden bisher von Jokote[7], Meißner[8] und Rebmann[16] ausgeführt. Nach Meißner verendeten Kaninchen bei einer Phosphorwasserstoffkonzentration von 1 : 670 nach 10 Minuten, bei einer Konzentration von 1 : 2500 nach 30 Minuten. Rebmann stellte bei Ratten bei einer Phosphorwasserstoffmenge von 80 mg/cbm oder (zum besseren Vergleich von mir volumetrisch umgerechnet) bei einer Konzentration von 1 : 18000 nach 4 Stunden, dagegen bei einer Konzentration von 800 mg cbm oder 1 : 1800 nach 1 Stunde tödliche Wirkung fest; Katzen starben in einer Gaskonzentration von 240 mg/cbm oder 1 : 6000 nach 2 Stunden, Meerschweinchen in einer Konzentration von 400 mg/cbm oder 1 : 3600 nach 2 Stunden. Geeigneter für den Vergleich zu meinen eigenen Untersuchungen sind die Ergebnisse von Jokote, der an Kaninchen, Ratten und Katzen akute bzw. subakute Vergiftungen erzielte bei etwas geringerer Konzentration des Gases und etwas längerer Einwirkung auf die Tiere. Bei seinen Versuchen hielten Kaninchen $2^1/_2$ –$3^1/_2$ Stunden eine Konzentration von 1 : 10000 aus, dagegen $8^1/_2$—12 Stunden eine Konzentration 1 : 40000 und sogar 16 -30 Stunden eine Konzentration von 1 : 100000. Da diese Zeitverhältnisse mehr den Arbeitszeiten entsprechen, innerhalb deren die Arbeiter bei der Kornspeicherbegasung vielleicht geringe Phosphorwasserstoffmengen einatmen, so habe auch ich mich bei meinen Versuchen an diese Größenverhältnisse gehalten und als tägliche Dauer der Einwirkung auf die Versuchstiere in der Gaszelle 4 Stunden festgesetzt.

Die Versuche wurden in einer 1 cbm-Gaszelle durchgeführt. Die Entwicklung des Phosphorwasserstoffs erfolgte aus Delicia: Das Präparat wird in einem Gazebeutel, der sich in einer durchlöcherten Porzellanhülse befindet, in die Gaszelle gehängt. Da die Gasentwicklung langsam erfolgt, kann man durch Stichproben leicht analytisch feststellen, wann die gewünschte Phosphorwasserstoffkonzentration erreicht ist. Um ein weiteres Ansteigen der Gaskonzentration zu verhindern, wird dann der Gazebeutel durch eine kleine, gasdicht verschließbare Tür der Gaszelle herausgenommen.

[15] Henderson u. Haggard: Noxious Gases **1927**, S. 188. — [16] Rebmann: Z. Gesdh.techn. **1933**, S. 279.

Es wurde nach einer empirischen, durch Vorversuche festgelegten Tabelle jedesmal eine bestimmte Menge Deliciapulver, verteilt auf zwei Gazebeutel deren Porzellanhülsen mit feuchtem Mull umwickelt waren, in die Zelle eingebracht, daselbst je nach der gewünschten Konzentration $^1/_2$—4 Stunden belassen und darauf nach ihrer Entfernung die Konzentration festgestellt.

Die analytische Kontrolle des Phosphorwasserstoffgehalts der Luft in der Zelle ist sehr einfach:

Es werden 2 Liter der Zellenluft durch 2 ccm n/50 Jodlösung, die zusätzlich noch 5 % Jodkali enthält, abgesaugt und der Jodverbrauch titriert. Um absolut genaue Werte zu erhalten, ist es nötig, gleichzeitig in einer zweiten Absaugeapparatur den Jodverbrauch der vorgelegten Jodmenge bei Durchsaugen von 2 Liter Zimmerluft festzustellen. Die Differenz des Jodverbrauchs von Versuch und Kontrolle entspricht dem Phosphorwasserstoffgehalt in 2 Litern.

Phosphorwasserstoff wird durch wässeriges Jodjodkalium zu Phosphorsäure oxydiert. Eine bestimmte Menge Jod wird daher durch die äquivalente Phosphorwasserstoffmenge entfärbt. Man bedient sich hierbei nach Lunge-Berl II, S. 1052, eines empirischen Faktors: 1 ccm n/100 Jodlösung = 0,041 ccm PH_3 = 60 γ PH_3.

Es zeigte sich, daß man auf diese Art bei einiger Erfahrung und unter Benutzung der empirischen Tabelle jedesmal innerhalb der einzelnen Versuchsserien ziemlich genau wieder die gleiche Konzentration, wie sie beabsichtigt war, erreichte, besonders, soweit es sich um die höheren Konzentrationen, z. B. 1 : 40000 handelte. Während bei diesen die täglichen Schwankungen etwa nur 2 % ausmachten, betrugen sie bei Versuchen mit sehr geringen Konzentrationen, z. B. 1 : 400000 bis zu 20 %. Die Abnahme der eingestellten Gaskonzentration während der Versuchsdauer war unwesentlich, denn wiederholt wurde bei einer Konzentration von 1 : 100000 bei verschlossener Zelle innerhalb von 24 Stunden ein Gasverlust von nur etwa 10 % festgestellt, dagegen blieb die Gasmenge in der Zelle innerhalb 4 Stunden der Versuchsdauer entweder konstant oder nahm nur sehr wenig ab.

Eine Übersicht über meine Versuche ist durch die nachstehende Tabelle gegeben, worin Anzahl und Art der Tiere, die jeweils angewandte Gaskonzentration und die Dauer der Einwirkung bis zum Tod des Tieres angegeben sind.

Aus der Übersicht ist zu ersehen, daß die Konzentration 1 : 40000 bereits nach 4stündiger Einatmung tödliche Wirkung hat (Tod in der Gaszelle bei Versuchsende). Tiere, die der gleichen Konzentration kürzere Zeit, 1 bzw. 2 Stunden, ausgesetzt waren, blieben am Leben und zeigten bei weiterer Beobachtung auch keine merkbaren Erscheinungen. Zu diesen Befunden steht das Ergebnis von Jokote [7]) keineswegs in Widerspruch. Jokote beobachtete bei einer Konzentration von 1 : 40000 nach $8^1/_2$- bis

Übersichtstabelle über das Verhältnis von Lebensdauer der Tiere zur Höhe der angewandten Gaskonzentration und Dauer der Einwirkung.

Konzentration	Dauer der Einwirkung	Tierversuche
1: 40 000	an 1 Tag 4 Std.	T. 2: Kaninchen tot gegen Ende der Versuchszeit
1: 40 000	„ 1 „ 4 „	T. 15: „ „ „ „ „ „
1: 40 000	„ 1 „ 4 „	T. 16: „ „ „ „ „ „
1: 40 000	„ 1 „ 4 „	T. 21: Meerschweinchen tot einige Std. nach dem Versuch
1: 40 000	„ 1 „ 4 „	T. 22: „ „ 1 Tag nach dem Versuch
1: 40 000	„ 1 „ 1 „	T. 23: Kaninchen überlebt
1: 40 000	„ 1 „ 2 „	T. 24: „ „
1: 40 000	„ 1 „ 2 „	T. 25: „ „
1: 50 000	„ 2 Tagen je 4 „	T. 17: Kaninchen tot gegen Ende der Versuchszeit des 2. Tages
1: 50 000	„ 2 „ „ 4 „	T. 18: „ „ 1 Std. nach dem Versuch des 2. Tages
1: 50 000	„ 2 „ „ 4 „	T. 19: Meerschweinchen tot einige Stunden nach dem Versuch des 2. Tages
1: 50 000	„ 2 „ „ 4 „	T. 20: „ „ „ „ „ „ „ „ 2. „
1: 100 000	„ 7 „ „ 2 „	T. 1: Kaninchen tot am 7. Tag kurz nach dem Herausnehmen aus der Gaszelle
1: 100 000	„ 14 „ „ 4 „	T. 4: „ „ in der Nacht vom 14. auf den 15. Tag
1: 100 000	„ 13 „ „ 4 „	T. 5: „ „ „ „ „ „ 13. „ „ 14. „
1: 100 000	„ 10 „ „ 4 „	T. 6: „ „ „ „ „ „ 13. „ „ 14. „
1: 100 000	„ 10 „ „ 4 „	T. 8: „ „ am 10. Tag gegen Ende der Versuchszeit
1: 120 000	„ 4 „ „ 4 „	T. 11: Kaninchen tot in der Nacht vom 4. auf den 5. Tag
1: 120 000	„ 5 „ „ 4 „	T. 12: „ „ „ „ „ „ 5. „ „ 6. „
1: 200 000	„ 47 „ „ 4 „ Gaseinwirkung, dazwischen 13 mal 1 Tag Pause	T. 3: Kaninchen überlebt
1: 400 000	an 48 Tagen je 4 Std. Gaseinwirkung, dazwischen 8 mal 1 Tag Pause	T. 13: Kaninchen überlebt
1: 400 000	an 48 Tagen je 4 Std. Gaseinwirkung, dazwischen 8 mal 1 Tag Pause	T. 14: „ „
1: 200 000	an 5 Tagen je 4 Std.	T. 9: Kaninchen tot am 6. Tag, 3 Std. nach Versuchsbeginn
1: 70 000	am 6. Tag 4 „	
1: 200 000	an 5 Tagen je 4 „	T. 10: „ „ „ 6. „ 3 „ „ „
1: 70 000	am 6. Tag 4 „	

12stündiger Einwirkung tödliche Vergiftung. Diese Angaben schließen nicht aus, daß seine Versuchstiere schon nach 4stündiger Einwirkung der gleichen Gaskonzentration verendet sein könnten.

Die Grenzkonzentration, die von Kaninchen bei je 4 Stunden langer täglicher Einwirkungszeit wochenlang ertragen wird, scheint etwa bei 1 : 200000 zu liegen; jedenfalls überlebten die Tiere eine Versuchsdauer von rund 2 Monaten, wenn sie täglich 4 Stunden lang in der Gaszelle mit der Phosphorwasserstoffkonzentration 1 : 400000 bzw. 1 : 200000 belassen wurden. Genauere Untersuchungen über chronische Einwirkung sehr geringer Phosphorwasserstoffmengen sind bereits in Angriff genommen und werden in der II. Mitteilung gebracht werden. Hier sollte lediglich die maximal mögliche Konzentration von Phosphorwasserstoff festgestellt werden, die das Kaninchen als Versuchstier längere Zeit ertragen kann, ohne daß das Tier merklich beeinträchtigt wird.

Im Bereich der Konzentrationen 1 : 50000 bis 1 : 200000 wurde unter den erwähnten Versuchsbedingungen subakute Vergiftung festgestellt, d. h. es bedurfte einer Gaseinwirkung von mehreren Tagen, bis die Tiere eingingen. Hierbei bestätigte es sich, wie im voraus angenommen wurde, daß es im allgemeinen, je höher die Konzentration angesetzt wurde, um so weniger Tage dauerte bis zur tödlichen Vergiftung. So starben die Tiere bei der Konzentration von 1 : 50000 bereits nach zweimal 4 Stunden. Bei der Konzentration von 1 : 100000 verendeten sie erst nach 7mal 4 Stunden bis 14mal 4 Stunden. Dieses Ergebnis stimmt übrigens sehr gut mit dem von Jokote überein, der ebenfalls Versuche mit der Konzentration 1 : 100000 anstellte; denn er berichtet, daß Kaninchen, Ratten und Katzen unter diesen Bedingungen erst nach insgesamt 16—30 Stunden Gaseinwirkung gestorben seien, wobei diese Zeit von Pausen unterbrochen gewesen sei.

Etwas abweichend von dem in der Mehrzahl beobachteten Verhältnis der Höhe der Gaskonzentration zur Dauer der tödlichen Gaseinwirkung ist das Ergebnis der Tierversuche T 11 und T 12. Hier erlagen die Tiere bereits der Phosphorwasserstoffkonzentration 1 : 120000 nach 4mal 4 bzw. 5mal 4 Stunden, also bedeutend früher als die Tiere, die der etwas höheren Konzentration von 1 : 100000 ausgesetzt waren.

Etwas merkwürdig ist auch das Ergebnis der Tierversuche T. 9 und T. 10. Bei diesen Versuchen war ursprünglich geplant, die Kaninchen möglichst lange einer sehr geringen Konzentration, 1 : 200000, auszusetzen, die, wie durch die Versuche T. 3 bzw. T. 13 und T. 14 bewiesen wurde, lange Zeit nicht tödlich wirkt. Infolge eines Versehens war jedoch die Gaskonzentration am 6. Tage 1 : 70000. Die Tiere gingen gegen Ende der 4stündigen Versuchszeit ein. Andererseits hatte es sich durch die Versuche T. 17, 18, 19 und 20 gezeigt, daß bereits bei der höheren Konzentration 1 : 50000 2mal 4 Stunden Aufenthalt in der Gaszelle nötig war, um eine tödliche Vergiftung hervorzurufen. Es kann als wahrscheinlich ange-

nommen werden, daß die fünftägige Vorbehandlung der Tiere mit der an sich kaum toxischen Konzentration 1 : 200000 die Widerstandsfähigkeit der Tiere so herabgesetzt hatte, daß sie bei der einmaligen 4stündigen Einwirkung der Gaskonzentration 1 : 70000 am Ende der Versuchszeit in der Gaszelle verendeten.

Die Krankheitserscheinungen der Versuchstiere zeigten sich verschieden stark ausgeprägt, je nach der Einwirkungskonzentration des Phosphorwasserstoffs. Bei starken Verdünnungen, z. B. 1 : 400000 oder 1 : 200000, war kaum ein verändertes Verhalten der Tiere festzustellen, nur vielleicht, daß sie einen etwas weniger lebhaften Eindruck machten; doch sind gerade Kaninchen in dieser Hinsicht schwer zu beurteilen. Bei den mittelstarken Konzentrationen, wie 1 : 100000, war gewöhnlich auch nichts Auffälliges bis etwa $^1/_2$ Stunde vor dem Tode festzustellen; die Kaninchen reagierten dann kaum auf äußere Reize, schienen benommen zu sein, schlossen die Augen, ließen den Kopf hängen, nahmen allmählich Seitenlage ein und schliefen bei sehr oberflächlicher Atmung unter zeitweiligem Röcheln langsam ein. Manchmal kam es vor, daß ein Kaninchen, obwohl es sich noch am Ende des Versuchs wie ein gesundes Tier benahm, entweder kurz nach dem Versuch in der frischen Luft unter den Symptomen des Lungenoedems verstarb oder erst viele Stunden später einging. Bei den höheren Konzentrationen 1 : 40000 und 1 : 50000 zeigten die Kaninchen zunächst ebenfalls keine Reizerscheinungen oder Atemnot, wurden aber nach einigen Stunden stark dyspnoisch mit stark wechselnder Atmungsfrequenz, legten sich bald auf die Seite, wurden bewußtlos und starben an Lungenoedem. Streckkrämpfe wurden vereinzelt beobachtet.

Blutuntersuchungen verschiedener Art von phosphorwasserstoffvergifteten Menschen und Tieren wurden von mehreren Autoren gemacht. Als allererste Angabe ist von Santesson[17] vermerkt, daß Phosphorwasserstoff das Blut der Frösche braun färbe. Jokote[7] fand einmal bei einer Katze bei der mikroskopischen Untersuchung auffallend kleine, lichtbrechende Körnchen in den Blutkörperchen; nach seinen Angaben war auch das Blut bei der Sektion meist geronnen. Mit dem Spektroskop wiesen er und auch Meissner nur Oxyhämoglobin nach. Dieser untersuchte auch die Affinität des Phosphorwasserstoffs zu den einzelnen Blutbestandteilen und stellte fest, daß Hämoglobin, Serum und Stroma etwa gleich stark Phosphorwasserstoff binden. Straub[3] und Gessner[6] konnten im Blute von Phosphorwasserstoffvergifteten weder Phosphorwasserstoff noch phosphorige Säure nachweisen. Ich selbst untersuchte bei den Tieren wiederholt vor und während der Behandlung mit Phosphorwasserstoff Hämoglobingehalt, Anzahl der Erythrocyten und Leukocyten; außerdem wurden die Verhältniszahlen der Leukocyten festgestellt. Ich konnte bei subakuten Vergiftungen innerhalb von 8—14 Tagen keine sicheren Änderungen

[17] Santesson: Zit. bei Meißner: Z. exper. Med. **42**, 267 (1924).

feststellen, bei drei Tieren, die längere Zeit mit geringen Phosphorwasserstoffmengen behandelt worden waren, nur eine geringe Abnahme des Färbeindex.

Auf genaue pathologisch-anatomische und besonders pathologisch-histologische Untersuchungen wurde besonderer Wert gelegt, da im Schrifttum über Sektionen von phosphorwasserstoffvergifteten Menschen fast durchweg negative Befunde angegeben sind. Nur Gessner[6] berichtet von Lungenoedem, Herzerweiterung und Blutüberfüllung in Leber und Nieren bei einer akuten bzw. subakuten Phosphorwasserstoffvergiftung. Straub[3] gibt ausdrücklich an, daß die Sektion eines Phosphorwasserstoffvergifteten keine Veränderungen der Organe zeigte. Jokote[7] stellte bei vergifteten Tieren gelegentlich Lungenoedem fest. Rebmann[16] beobachtete an Ratten, Meerschweinchen und Katzen, abgesehen von mehr oder weniger starker Hyperämie der Lunge und einer gelegentlich festgestellten eigentümlichen Fleckung der Leber nichts Besonderes.

Bei meinen Untersuchungen fand ich in allen Fällen, sowohl bei akuter wie subakuter Vergiftung, starke Hyperämie in fast allen Organen, besonders in der Lunge, Leber, Niere und auch im Gehirn. Das Herz war regelmäßig sehr erweitert und schlaff. Die Lunge war mit Oedemflüssigkeit angefüllt, Trachea und Bronchien waren mit Schleim bedeckt.

Bei der pathologisch-histologischen Untersuchung der einzelnen Organe ergaben sich folgende Befunde:

A. Akute Vergiftung.

Lunge. Starke Stauungshyperämie, teilweise Thrombosierung der großen Gefäße, hämorrhagisches Oedem, vikariierendes Emphysem.

Trachea: Hyperämie, keine Entzündungserscheinungen.

Herz: Bei einem Tier kleine Blutungen in der Herzmuskulatur.

Niere: Hyperämie, trübe Schwellung der tubuli contorti.

Milz: o. B.

Gehirn: Hyperämie.

Übrige Organe: o. B.

B. Subakute Vergiftung.

Lunge: Starke Stauungshyperämie, teilweise mit Thrombosierung der großen Gefäße. Hämorrhagisches Oedem, bei einigen Tieren Bronchiolitis, Atelektase, vikariierendes Emphysen (vgl. Abb. 1); mehrmals, besonders bei längerer Einwirkung des Gases, ein braunes Pigment, das keine Berlinerblau-Reaktion zeigte.

Trachea: Hyperämie, keine Entzündungserscheinungen.

Herz: Bei zwei Tieren kleine Blutungen in der Herzmuskulatur.

Leber: Stauungshyperämie, herdförmige, vorwiegend peripherische Verfettung der Leberläppchen (vgl. Abb. 2), verschieden stark ausgeprägt, je nach der Dauer der Gaseinwirkung.

Niere: Hyperämie, starke trübe Schwellung bzw. Nekrose der tubuli contorti bei Erhaltensein der Glomeruli (vgl. Abb. 3), vereinzelt mit Eiweiß- und Kalkzylindern.

Milz: Mehrfach, besonders bei den etwas länger am Leben gebliebenen Tieren, stärker angehäuftes Eisenpigment.

Gehirn: Hyperämie.

Übrige Organe: o. B.

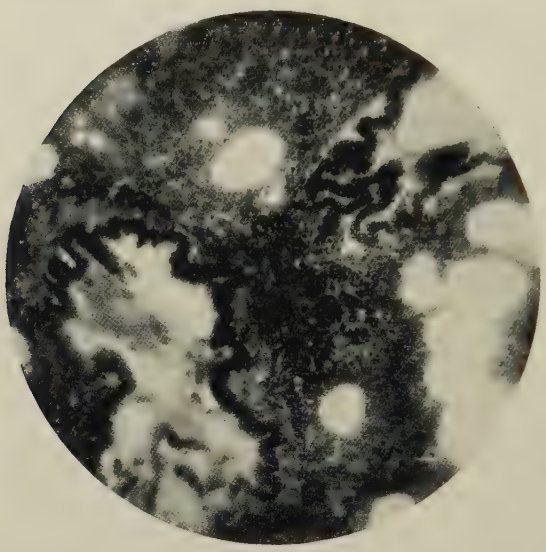


Abb. 1. (T. 8; Vergr. 1: 250).
Lunge: Hämorrh. Oedem, Bronchiolitis, Atelektase, vik. Emphysem.

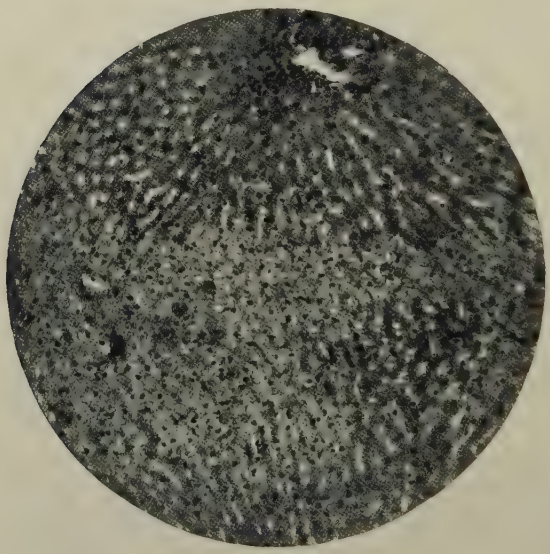


Abb. 2. (T. 8; Vergr. 1: 250).
Leber: Herdförmige, vorwiegend periph. Verfettung der Leberläppchen.

Herrn Prosektor Prof. Dr. Heine und Herrn Dr. Selberg vom Pathologischen Institut des Allgemeinen Krankenhauses St. Georg, Hamburg, die freundlicherweise einige Präparate durchsahen und meine Befunde bestätigten, spreche ich an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank aus.

Aus diesen pathologisch-anatomischen Befunden geht hervor, daß der Phosphorwasserstoff in höheren Konzentrationen, etwa 1 : 40000, auf Kaninchen bereits nach wenigen Stunden so giftig wirkt, daß plötzlicher Tod eintritt. Durch weit geringere Konzentrationen dieses Gases, 1 : 100000, die unter den gegebenen Versuchsbedingungen bei Kaninchen zu akuten Vergiftungen nicht aus-

reichen, werden schwere organische Veränderungen gesetzt, so daß innerhalb von 1—2 Wochen der Tod erfolgt.

Die Prognose der schweren Phosphorwasserstoffvergiftung ist schlecht. Nach Lewin enden 50% der Erkrankungen mit dem Tode. Mir gelang es in keinem Falle durch sofort angewandte Maßnahmen, wie künstliche Atmung in frischer Luft bzw. Sauerstoffzufuhr, Herzmassage usw., Tiere mit klinischen Vergiftungserscheinungen am Leben zu erhalten.

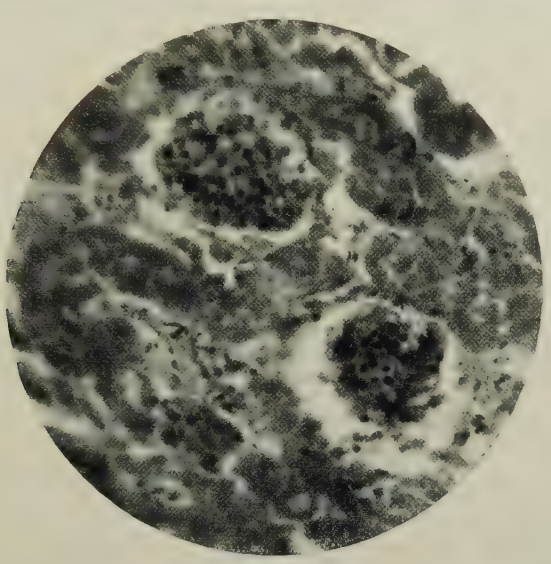


Abb. 3. (T. 8; Vergr. 1: 250).
Niere: Nekrose der tubuli contorti, Glomeruli erhalten.

Zusammenfassung.

Nach den vorliegenden Erfahrungen bei Unglücksfällen durch Phosphorwasserstoff wie auch auf Grund aller bisher vorgenommenen Tierversuche ist der Phosphorwasserstoff als ein hochgiftiges Gas zu bezeichnen, besonders auch deshalb, weil er selbst in geringen, an sich ungefährlichen Mengen, aber wiederholt eingeatmet kumulative Wirkungen zeigt. Phosphorwasserstoff ist ein Gift, das besonders in größeren Konzentrationen, die lebenswichtigen Zentren, vor allem Atmung und Gefäße, lähmt, aber auch Lunge, Leber und Niere schwer schädigt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Zur Biologie des 2, 4-Diaminoazobenzols.

IV. Mitteilung:

Versuche über die keimtötende Wirkung des Azorhodan R und Beobachtungen über das sonstige Verhalten dieser Verbindung.

Von

Herbert Riedel.

(Eingegangen am 21. April 1940.)

In der dritten Mitteilung (1) wurden die chemischen Eigenschaften einer synthetisch dargestellten Substanz beschrieben, die sich als die Rhodanwasserstoffverbindung der wirklichen Chrysoidinbase, nämlich des 2, 4-Diaminoazobenzols erwiesen hatte. Im folgenden wird die bakterienabtötende Wirkung dieser „Azorhodan R" genannten Verbindung untersucht und mit der des „Azorhodan Alt", dessen bakterizide Eigenschaften in der zweiten Mitteilung (2) behandelt wurden, verglichen.

Die Untersuchungsmethodik bestand wieder darin, daß von einer Bakterienreinkultur jeweils zwei Platinösen voll in 1 ccm der Farbstoffverdünnung gegeben und dann zu verschiedenen Zeiten zwei Ösen der so erhaltenen Bakteriensuspension auf sterile Nährplatten übertragen wurden. In den folgenden Tabellen wurde das Angehen der Bakterien, die 24 Stunden im Brutschrank gehalten wurden, mit einem „+"-Zeichen, das Nichtwachsen mit einem „—"-Zeichen vermerkt.

Wirkung auf Staphylococcus pyogenes aureus.

Konzentration	Einwirkungszeit			
	1 Min.	5 Min.	25 Min.	125 Min.
1:6000 in 0,9%igem NaCl	+	+	—	—
1:1000 in 25%igem Alkohol	kaum gewachsen	—	—	—

Wirkung auf Bacterium coli.

Konzentration	Einwirkungszeit			
	1 Min.	5 Min.	25 Min.	125 Min.
1:6000 in 0,9%igem NaCl	+	+	kaum noch	—
1:1000 in 25%igem Alkohol	+	—	—	—

Wirkung auf Pneumococcen.

Konzentration	Einwirkungszeit			
	1 Min.	5 Min.	25 Min.	125 Min.
1:6000 in 0,9%igem NaCl	+	+	—	—
1:1000 in 25%igem Alkohol	—	—	—	—

In der gleichen Weise wurde noch einmal die Wirkung von Azorhodan Alt geprüft. Die Ergebnisse wichen von denen der früheren Arbeit (2) nicht ab und sind deshalb in den Tabellen nicht wiederholt. Nach den bisherigen Versuchen läßt sich sagen, daß Azorhodan R wirksamer ist als das alte Azorhodan. Wässeriges Azorhodan R tötete Staphylokokken in 25 Min. ab, während Azorhodan Alt nach 125 Min. noch keinen Effekt zeigte. Ähnlich lagen die Befunde bei Colibakterien und Pneumokokken. Wässerig gelöstes Azorhodan R ließ Colibakterien nach 25 Min. langer Einwirkungsdauer kaum noch angehen. Azorhodan Alt hatte dagegen nach 125 Min. noch kein eindeutig negatives Ergebnis. Pneumokokken, deren Wachstum durch 25 Min. lange Einwirkung von Azorhodan R-Lösung verhindert wurde, wurden durch Azorhodan Alt erst nach 125 Min. abgetötet. Der Einfluß des Alkohols auf das Bakterienwachstum in den Versuchen mit 25%iger alkoholischer Azorhodan R-Lösung geht aus der folgenden Tabelle hervor, die die Ergebnisse mit verdünntem Alkohol ohne Farbstoffzusatz wiedergibt:

Bakterienart	Einwirkungszeit			
	1 Min.	5 Min.	25 Min.	125 Min.
Staphyl. pyog. aureus	+	+	+	—
Bacterium coli	+	+	—	—
Pneumokokken	+	+	—	—

Der Äthylalkohol war demnach an der Desinfektionswirkung der alkoholischen Farbstofflösungen wesentlich beteiligt. In Kontrollversuchen, die mit reiner physiologischer Kochsalzlösung angestellt wurden, waren die Bakterien dagegen immer gewachsen.

Im Anschluß an die Untersuchung der bakteriziden Wirkung des Azorhodan R seien noch einige andere Eigenschaften dieser Azoverbindung erwähnt.

Geschmack: Behielt man wenige ccm einer konzentrierten wässerigen Azorhodan R-Lösung etwa 1 Min. lang im Munde, machte sich sehr bald ein schwach brennendes Gefühl bemerkbar. Eine andere Geschmacksempfindung, wie salzig, bitter usw. konnte nicht festgestellt werden. Wurde dann die Farbstofflösung nach 1 Min. entleert, blieb als Nachempfindung ein deutlich wahrnehmbares oberflächlich taubes Gefühl zurück, das erst im Verlauf von etwa 5 Min. verschwand. Beim Azorhodan Alt stand eine

metallisch bittere Empfindung im Vordergrund, die von einem kaum noch scharf zu nennenden Geschmack begleitet wurde. Als Nachempfindung blieb ein schwaches Prickeln, das aber rasch verschwand. Es war interessant, festzustellen, daß die „anästhesierende" Eigenschaft auf die basische Komponente des Azorhodan R zurückzuführen war, denn in erwärmtem Glycerin gelöstes reines 2, 4-Diaminoazobenzol erzeugte bei mehreren Versuchspersonen neben schwachem Brennen ein deutlich taubes Gefühl auf der Zunge.

Toxizität: Die Giftigkeit des Azorhodan R wurde an Ratten, Kaninchen und Katzen geprüft. Dosen bis zu 1 g/kg Ratte wurden bei oraler Gabe von wässerig aufgeschwemmtem Azorhodan R noch sehr gut vertragen. Nach oralen Dosen von 2 g/kg starben die Tiere im Verlauf von 48 Stunden. Bei der Sektion waren Fett- und Bindegewebe deutlich gelb gefärbt. Im Magen fanden sich noch Farbstoffkristalle. Makroskopisch war an den Organen sonst nichts Besonderes zu bemerken. Die ziemlich hell erscheinenden Lebern der Tiere erweckten zwar den Verdacht auf Verfettung, es stellte sich jedoch heraus, daß auch völlig gesunde unbehandelte Ratten solche Lebern aufwiesen. In einer späteren Untersuchung wird auf die Möglichkeit einer etwaigen Parenchymschädigung durch Derivate aromatischer Diamine noch näher eingegangen werden. Katzen befanden sich nach oralen Dosen von 0,1 g/kg gesund, ebenso Kaninchen. Wurde Ratten (200 g schwer) 100 mg Farbstoff unter die Rückenhaut gespritzt, so fand sich nach 8 Tagen am Eingang des Stichkanals eine geringe Schorfbildung. Im Zentrum des Stichkanals lag anscheinend noch unverändertes granatfarbenes Azorhodan R. In der Umgebung befanden sich gelbliche Massen, die wahrscheinlich aus Farbbase bestanden, wie es auch beim Azorhodan Alt festgestellt wurde. Krankhafte Symptome wurden an den Tieren während dieser Zeit nicht bemerkt. Bei der Sektion fiel nur die wieder sehr hell gefärbte Leber auf. Außerdem erschien die Umgebung der Injektionsstelle etwas sulzig infiltriert und zeigte geringe Gefäßinjektion. Der Heilungsverlauf von Schnittwunden, die reichlich mit Azorhodan R-Pulver eingestäubt worden waren, erfuhr bei Kaninchen als Versuchstieren keine Verzögerung. Nebenher sei noch erwähnt, daß von einem Kapselbazillus hervorgerufene phlegmonöse Eiterungen, die sich manchmal unter der Haut von Kaninchen ausbreiten und dort mit einer käsigen weißen Masse gefüllte Beutel bilden, nach Spaltung, Entleerung und Einstäuben der Höhlen mit Azorhodan R-Pulver gut abheilten. Auch die Hunderäude ging nach Einpinselung der befallenen Hautstellen mit alkoholischer Azorhodan R-Lösung rasch zurück. Der Juckreiz hörte schon nach einmaliger Behandlung auf, denn die kranken Tiere kratzten sich nicht mehr. Nach dreimaliger, an aufeinanderfolgenden Tagen erfolgter Einpinselung waren die Milben anscheinend abgetötet. Die Hitze verschwand aus den Gliedern, und die verseuchten Stellen bedeckten sich nach reichlicher Abschilferung allmählich wieder mit normalem Haarwuchs.

Ausscheidung: $1^1/_2$ Stunden nach Einnahme von 100 mg Azorhodan R wurden 200 ccm eines orangefarbenen Harns ausgeschieden. Setzte man zu 50 ccm dieser ersten Portion etwas Natronlauge, so trat Farbvertiefung von Orange nach Orangerot ein. Diese Tatsache erschien merkwürdig, weil bei entsprechend angestellten Ausscheidungsversuchen mit Azorhodan Alt unter den obigen Bedingungen immer Farbverschiebung nach Gelb hin eintrat, da die hierbei ausflockende Farbbase bzw. deren basisches Umwandlungsprodukt eben gelb gefärbt waren. Eine Erklärung kann für diese Erscheinung noch nicht gegeben werden. Wurde der alkalisierte Harn mit etwas Chloroform ausgeschüttelt, so färbte sich dieses nur ganz schwach gelb an, d. h., daß unveränderte Farbbase nur in ganz geringer Menge in dem ausgeschiedenen Harn vorhanden sein konnte. Ein Versuch mit einer zweiten etwas stärker gefärbten Harnportion hatte das gleiche Ergebnis. Nach Versetzen des alkalisch gemachten Harns mit Salzsäure trat anfangs Hellerfärbung des orangeroten Harns ein, die aber nach weiterem Säurezusatz in ein dunkles Rubinrot überging. Wurde nun der angesäuerte Harn kurz aufgekocht, wieder alkalisch gemacht und dann mit Chloroform ausgeschüttelt, so färbte sich dieses jetzt stark gelb. Aus diesem Versuch ging hervor, daß der größte Teil der mit dem Azorhodan R eingenommenen Farbbase in veresterter Form in den Harn ausgeschieden und durch das Aufkochen in Gegenwart von Mineralsäure gespalten wurde. Die Ausscheidung gefärbten Harns erstreckte sich nach Aufnahme von 100 mg 2, 4-Diaminoazobenzolmonorhodanid auf etwa 10 Stunden. Ein Maximum an Farbstoffkonzentration war nach 2 Stunden erreicht, dann wurde der Harn allmählich heller.

Vergleicht man das biologische Verhalten des Azorhodan R mit dem des alten Azorhodans, so kann man wohl sagen, daß sich beide Stoffe sehr ähnlich verhalten. 2, 4-Diaminoazobenzolmonorhodanid = Azorhodan R ist gegen Bakterien etwas wirksamer als Azorhodan Alt. Beide Verbindungen schließen sich in ihren Eigenschaften an die anderen als Abkömmlinge eines Aminoazokörpers beschriebenen Azofarbstoffe Azohel und Azojod an (3). Nach den bisher vorgenommenen Versuchen hat es den Anschein, daß der Träger der eigentlichen Desinfektionswirkung das 2, 4-Diaminoazobenzol ist und daß die Säurekomponente im Falle des Azorhodan Alt und Azorhodan R nur eine untergeordnete Rolle spielt. Dies wird in besonderem Maße für die orale Anwendung der Rhodanverbindungen gelten, denn die in der vorliegenden und zweiten Mitteilung beschriebenen Ausscheidungsversuche wiesen immer wieder darauf hin, daß der Säureanteil des Farbstoffs wahrscheinlich schon im Magen, bestimmt aber in tiefer gelegenen Darmabschnitten abgespalten und die Hauptmenge der resorbierten Chrysoidinbase im Organismus verestert wird.

Für die äußerliche Anwendung von Aminoazobenzolabkömmlingen kann dagegen die Säurekomponente von größerer Bedeutung sein. So konnten Lockemann und Ulrich (3) zeigen, daß z. B. das Azojod in vitro

stärkere bakterizide Wirkung hatte als seine freie Base oder deren Salzsäure-Citronensäurederivat. Sicherlich spielte hierbei das Freiwerden von Jodwasserstoffsäure bzw. Jod eine Rolle, was natürlich ebenso auf mit Staphylokokken infizierter menschlicher Haut geschehen könnte. Bezüglich der Ausscheidung in den Harn weicht das Azorhodan R vom alten Azorhodan nur darin ab, daß die Alkalisalze des Ausscheidungsproduktes von Azorhodan R tiefrot gefärbt sind, während die des Azorhodan Alt orangegelb erscheinen. In der praktischen Anwendung gegen parasitäre oder infektiöse Hauterkrankungen könnte das Azorhodan R gewisse Vorteile bieten, da es etwas wasserlöslicher ist als das Azorhodan Alt.

Zusammenfassung.

Es wurden die Ergebnisse von Desinfektionsversuchen mit Azorhodan R mitgeteilt, das Verhalten dieser Substanz auf der Mundschleinhaut, ihre Toxizität und Ausscheidung in den Harn besprochen und mit den Verhältnissen beim Azorhodan Alt verglichen.

Literatur.

1) Riedel, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 75 (1940). — 2) Riedel, H.: Ebenda **194**, 613 (1940). — 3) Lockemann, G., u. W. Ulrich: Dtsch. med. Wschr. **1934**, S. 395.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Der Umrechnungsfaktor Meerschweinchen/Frosch für k-Strophanthin.

Von

Dr. **Mario Reiser.**

(Eingegangen am 3. März 1940.)

Die in der Arbeit von W. Straub, Zengo Kanda und F. Zinnitz[1] ermittelten Resultate gelten vor allem für die Digitalisrohdrogen, wie Folia Digitalis purpurea, Folia Digitalis lanata und Convallaria. Schon in der damaligen Untersuchung des Problems, einen Umrechnungsfaktor zu ermitteln, stießen die Autoren bei Reinsubstanzen, wie Digitoxin, Digilanid u. a., auf große Hindernisse, die einzelnen Werte streuten in störender Weise. Einzig das k-Strophanthin gab brauchbare Werte, die schließlich zur Aufstellung eines Faktors 0,7 führten, gegenüber den vielfach höheren Faktoren der Drogen. Wenn auch die Faktoren der einzelnen Substanzen Individualwerte darstellen, so war der Sprung von Folia Digitalis zu Strophanthin doch so groß, daß eine abermalige Behandlung dieser so vielfach verwendeten Substanz wünschenswert erschien. Auf Veranlassung von Prof. W. Straub habe ich mich dieser Aufgabe unterzogen.

Es besteht kein Zweifel, daß die Bearbeiter des Strophanthinproblems mit dem Faktor 0,7 stets richtige Ergebnisse der Umrechnung erhalten haben. Es steckt jedoch im wesentlichen Teil der Methode, der Feststellung der Endreaktion, viel Subjektives, das auszuschalten ich mich bemühte. In der ersten Arbeit wurde Strophanthin in der Verdünnung 1 : 3333 verwendet. Die Konzentration ist für Strophanthin sehr hoch. Das ergibt sich schon daraus, daß der Tod mit durchschnittlich 0,5 ccm Lösung erreicht wurde. Wenn auch die Spritze die Präzision der Injektion gewährleistet, so schien mir doch ein größeres Volumen einer geringer konzentrierten Strophanthinlösung angezeigt, schon zur relativen Ausschaltung des toten Raumes der Spritzennadel bei der Infusion. Ich wählte stets die Konzentration 1 : 10000, also das Dreifache der früheren Verdünnung, so daß im Durchschnitt mehr ccm verbraucht wurden. Ein zweiter Punkt ist die Frage, wie ermittelt man bei Beobachtung am Saitengalvanometer scharf den Punkt des Herztodes, denn scharf ist er, wie aus den Hatcher-Versuchen hervorgeht, und besonders durch Z. Kanda im Blutdruckversuch am Meerschweinchen festgestellt wurde.

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 1 (1939).

Bekanntlich ist der Vorhof im Vergleich zum Ventrikel für Digitalisstoffe relativ immun (siehe S. Yagi unter W. Straub[2]). Das zeigt sich schon am ausgeschnittenen Herzen. Aber auch in situ scheint er nicht an Digitalis zu sterben, sondern erst sekundär infolge des durch den Ventrikelstillstand bedingten Atemstillstandes.

Es ist also nicht so, daß die Aktionsströme mit dem Ventrikelstillstand oder unmittelbar darauf aufhören. Sie überdauern diesen vielmehr noch um 1—2 Minuten. Trotzdem läßt sich der tatsächliche Herzstillstand, der gleichzeitig ein Stillstand des Kreislaufs ist, mit einiger Erfahrung einwandfrei bestimmen. Die auf der Mattscheibe beobachteten Ausschläge des Saitengalvanometers werden nach Infusion etwa der halben tödlichen Dosis unregelmäßig und immer unregelmäßiger. Im Moment des Herzstillstandes, d. h. des Ventrikelstillstandes, bleibt die Saite für kurze Zeit unter leichtem Zittern in der Mittellage stehen, um dann wieder für einige Zeit in unregelmäßige Bewegungen überzugehen. Diese sind wohl durch Aktionsströme verursacht, die durch die den Ventrikelstillstand überdauernden Vorhofkontraktionen ausgelöst werden, welch letztere man übrigens durch Thoraxeröffnung deutlich sehen kann.

Um diesen am Saitengalvanometer ermittelten Moment des Ventrikeltodes festzulegen, habe ich gleichzeitig den Moment des Ventrikeltodes mechanisch kontrolliert, indem ich die freigelegte Carotis in einen Sphygmographen nach Brömser brachte, der den leisesten Puls erfassen läßt. Die Pulse werden optisch vergrößert durch einen Spiegel an einem Arm des Sphygmographen, der einen reflektierten Lichtstrahl in entsprechender Entfernung auf eine Projektionswand wirft. So konnte ermittelt werden, daß mit dem Aussetzen des Pulses tatsächlich jener oben beschriebene Moment des Elektrocardiogramms zusammenfällt.

Daraufhin wurde unter Beobachtung jener elektrographischen Momente die Endreaktion bei Strophanthininfusionen festgestellt. Die Versuche wurden mit 0,01%iger Strophanthinlösung gemacht, und der Einlauf so reguliert, daß in etwa 15 Minuten der Tod zu erwarten war.

Es wurden insgesamt 5 verschiedene k-Strophanthinpräparate ausgewertet, deren Froschdosen durch E. Triendl genau bestimmt waren. Mit jedem Präparat wurden mindestens 5 Einzelversuche angestellt. Aus dem Durchschnitt aller Versuche ergab sich der Umrechnungsfaktor von Meerschweinchentiter auf Froschtiter = 1, also Meerschweinchenwirksamkeit des k-Strophanthins = Froschwirksamkeit. Die aus 5—7 Einzelversuchen ermittelten Durchschnittswerte für die einzelnen Strophanthinpräparate wichen vom Gesamtdurchschnitt nie mehr als um ± 10% ab.

Eine gewaltige Streuung ergab sich lediglich einmal bei einer Sendung von Meerschweinchen, von denen die meisten trächtige Weibchen waren. Es empfiehlt sich also, nur Männchen zu verwenden.

---

[2] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **79**, 19 (1915).

Zusammenfassung.

Die von W. Straub und Mitarbeitern modifizierte Knaffl-Lenz-Meerschweinchenmethode wurde zur Auswertung von k-Strophanthin

Versuche.

Extraktmenge ccm	Gewicht des Tieres g	Tödliche Dosis ME/g Droge	Tödliche Dosis FD/g Droge	Koeffizient ME/FD
		k-Strophanthin Nr. 2433.		
2,86	460	1,606 Millionen	1,75 Millionen	0,915
2,49	390	1,6951 „	1,75 „	0,966
2,48	405	1,7674 „	1,75 „	1,007
3,09	550	1,9263 „	1,75 „	1,098
	Mittelwert:	1,70 Millionen	1,75 Millionen	1,10
		k-Strophanthin Nr. 2434.		
2,50	485	1,94 Millionen	1,805 Millionen	1,074
1,75	420	2,428 „	1,805 „	1,345
2,59	455	1,756 „	1,805 „	0,973
2,77	425	1,530 „	1,805 „	0,848
2,39	410	1,719 „	1,805 „	0,953
	Mittelwert:	1,875 Millionen	1,805 Millionen	1,04
		k-Strophtanhin Nr. 2435.		
2,10	315	1,500 Millionen	1,538 Millionen	1,023
1,975	315	1,595 „	1,538 „	1,036
1,64	275	1,677 „	1,538 „	1,080
2,25	335	1,489 „	1,538 „	0,968
2,85	385	1,356 „	1,538 „	0,878
1,80	375	2,083 „	1,538 „	1,354
	Mittelwert:	1,616 Millionen	1,538 Millionen	1,066
		k-Strophanthin Nr. 2436.		
2,74	380	1,337 Millionen	1,887 Millionen	0,735
1,55	330	2,129 „	1,887 „	1,128
2,30	305	1,326 „	1,887 „	0,703
2,34	400	1,969 „	1,887 „	0,906
1,85	325	1,757 „	1,887 „	0,933
2,44	435	1,783 „	1,887 „	0,945
1,50	265	1,767 „	1,887 „	0,936
	Mittelwert:	1,687 Millionen	1,887 Millionen	0,900
		k-Strophanthin Nr. 2437.		
2,165	325	1,501 Millionen	1,639 Millionen	0,916
1,50	320	2,183 „	1,639 „	1,331
2,10	345	1,643 „	1,639 „	1,002
2,15	310	1,442 „	1,639 „	1,879
2,30	280	1,218 „	1,639 „	0,743
1,725	260	1,507 „	1,639 „	0,919
1,41	240	1,702 „	1,639 „	1,038
	Mittelwert:	1,599 Millionen	1,639 Millionen	0,975

Gesamtdurchschnitt der Koeffizienten (Umrechnungsfaktoren von Meerschweinchentiter auf Froschtiter).

	Koeffizient
Strophanthin Nr. 2433	1,10
„ „ 2434	1,04
„ „ 2435	1,06
„ „ 2436	0,90
„ „ 2437	0,97
Gesamtdurchschnitt	= 1,01

verwendet. Die Methode erwies sich als sehr einfach und zuverlässig. Der gefundene Umrechnungsfaktor von Meerschweinchentiter auf Froschtiter war = 1, d. h. 1 g k-Strophanthin tötet genau soviel Gramm Frosch wie Meerschweinchen.

Errechnet man mit Hilfe des aus dem Gesamtdurchschnitt gefundenen Koeffizienten = Umrechnungsfaktors aus den einzelnen Bestimmungen jeden Präparates die Froschdosis (das ist die Menge Droge, die 1 g Frosch tötet), so ergeben sich folgende Werte (daneben die aus dem Froschversuch gefundenen Froschdosen):

	Gefundene Froschdosen (Froschversuch)	Errechnete Froschdosen (Meerschweinchenversuch)
Strophanthin Nr. 2433	0,000 000 57	0,000 000 589
„ „ 2434	0,000 000 554	0,000 000 533
„ „ 2435	0,000 000 65	0,000 000 619
„ „ 2436	0,000 000 53	0,000 000 593
„ „ 2437	0.000 000 61	0,000 000 625

Aus dem Städtischen Forschungsinstitut für Bäderkunde und Stoffwechsel in Wiesbaden.

Gibt es eine entgiftende Wirkung von Mineralwässern gegenüber Spartein?*

Von

Ulrich Hintzelmann und **Alexander Daisky**

[Wiesbaden] [Bad Soludervent (Momina Banja), Bulgarien].

(Eingegangen am 3. April 1940.)

Seitdem, angeregt durch die grundlegenden Untersuchungen Gabriel Billards (1904)[1] französische[2,3,4,5] und italienische[6,7] Forscher wiederholt darauf hingewiesen haben, daß es Mineralwässer gibt, die „antitoxische", „anagotoxische"**, „phylaktische"**, „inaktivierende" oder „entgiftende" Wirkungen gegen Bakterientoxine, Schlangengifte, Alkaloide und andere Giftstoffe auszuüben vermögen, mehren sich auch in dem deutschen Schrifttum der letzten Jahre derartige Angaben. So haben v. Dungern und Pawelitzki[8] für den Altheider Sprudel in Versuchen an Meerschweinchen, vor allem aber E. Glaser mit seinen Mitarbeitern[9,10,11,12] für das Gasteiner Wasser, das Jodwasser der Thassiloquelle in Hall, die Franzensbader Eisenquellen und den Karlsbader Sprudel die Behauptung aufgestellt, daß alle diese Wässer Sparteinsulfat, subcutan bei Mäusen in tödlichen Dosen injiziert, entgiften sollen.

Es ist erstaunlich, daß Mineralwässer so heterogener Zusammensetzung, wie es die genannten sind, alle in mehr oder weniger symptomatisch gleicher Weise das Spartein zu entgiften vermögen. Sollte dies wirklich der

* Die Versuche wurden bereits im August 1939 beendet, konnten aber aus äußeren Gründen erst jetzt veröffentlicht werden.

[1] Billard, Gabriel (1873—1929) war Professor der Physiologie an der Medizinschule in Clermont-Ferrand. — [2] Billard, G.: J. Physiol. et Path. gén., März 1928; Presse méd. **113** (1927). — [3] Violle, P.-L., u. A. Giberton: Presse méd. **115** (1929). — [4] Perrin, M., u. A. Cuénot: J. Physiol. et Path. gén. **29**, 478, 717 (1931); **30**, 87 (1932). — [5] Ferreyrolles, P.: Arch. med. Hydrol. (Brit.) **6**, 19 (1928). — [6] Labarile, V.: Rass. Ter. e Pat. clin. **5**, 707 (1933). — [7] Menotti, F. M.: Ebenda **7**, 1 (1935). - [8] v. Dungern, M. Frh., u. L. Pawelitzki: Balneologe **6**, 295 (1939). — [9] Glaser, E., O. Haempel u. F. Ranftl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 172 (1938). — [10] Glaser, E., u. F. Ranftl: Wien. klin. Wschr. **1939**, Nr. 12. — [11] Glaser, E., u. F. Ranftl: Münch. med. Wschr. **86**, 997 (1939). — [12] Glaser, E., u. F. Ranftl: Wien. med. Wschr. **1940**, Nr. 2.

** Begriffe, die etwa auf „giftabschwächend" bzw. „schützend" hinauslaufen, wobei der Angriffspunkt des Mineralwassers an das Gift selbst (anagotoxique) oder in die Zelle (phylactique) verlegt wird.

Fall sein, so wäre damit eine leicht durchführbare Methode gegeben, mit der man den Wirkungsmechanismus der Mineralwässer in überraschend einfacher Weise aufklären könnte. Es erschien uns daher interessant, im Zuge unserer eigenen Untersuchungen über den Wiesbadener Faulbrunnen[13] auch diese „Eigenschaft" der Wässer mit in die Betrachtungen einzubeziehen. Den direkten äußeren Anlaß für unsere Versuche gab die Arbeit von Glaser, Haempel und Ranftl[9], in der die Sparteinvergiftung als „ein brauchbarer Test zur pharmakologischen Beurteilung bestimmter Mineralwässer" bezeichnet wird.

Wir untersuchten in dieser Richtung 1. die Schützenhofquelle unseres Instituts, die sich nur wenig von dem bekannten Wiesbadener Kochbrunnen unterscheidet, 2. das eisenhaltige Liebensteiner Wasser in Form seiner Handelsabfüllungen und 3. das Gasteiner Wasser[14]. Im einzelnen wurden die Versuche folgendermaßen durchgeführt. Es kamen nur Mäuse zur Verwendung, die durch eine längere Beobachtungszeit bei gleichartigem Futter (Brot, Hafer, Leitungswasser) als gesund und einwandfrei erkannt wurden. In den jeweils frisch hergestellten Lösungen wurde die Konzentration des Sparteinsulfats so gewählt, daß jeweils 0,005 ccm die zu injizierende Dosis in mg pro g Maus enthielten. Die doppelte Menge hiervon wurde im Meßzylinder auf 2 ccm aufgefüllt und hiervon 1 ccm subcutan injiziert. Nur im 1. Versuch wurde die nicht auf 1 ccm aufgefüllte unverdünnte Sparteinlösung injiziert. Die Verdünnung auf 1 ccm geschah, weil Glaser und Mitarbeiter[9] ausdrücklich darauf hingewiesen haben, daß bereits 1 ccm Gasteiner Wasser imstande sei, die tödlich wirkende Dosis von 0,1 mg Sparteinsulfat pro g Maus zu entgiften. Größere Mengen Mineralwasser usw. können zur Gefährdung von Kreislauf und zu Resorptionsstörungen bei den kleinen Versuchstieren führen und dadurch das „Entgiftungsresultat" in unübersehbarer Weise beeinträchtigen. Wir haben daher von der Verwendung größerer Mengen, wie dies Glaser[9] tut, abgesehen.

Die folgenden zwei Tabellen zeigen alle von uns durchgeführten 11 Versuche an insgesamt 71 Mäusen im Gewicht von minimal 17 bis maximal 29 g. Wie aus der Tabelle 1 ersichtlich ist, vermag weder die Wiesbadener Schützenhofquelle noch das Liebensteiner oder das Gasteiner Wasser Sparteinsulfat, in Dosen von 0,1, 0,11, 0,125, 0,135 oder 0,15 mg pro g subcutan bei Mäusen injiziert, zu entgiften oder auch nur in reproduzierbarer Weise in der Wirkung mit Sicherheit abzuschwächen. Weder die Zeit von der Injektion bis zum Eintritt des Todes noch auch die einzelnen Vergiftungssymptome erfahren durch die Mineralwässer eine charakteristische, mit Sicherheit reproduzierbare Änderung gegenüber den Kontrollversuchen mit destilliertem Wasser.

---

[13] Hintzelmann, U.: Wien. med. Wschr. **1939**, Nr. 11, S. 272. — [14] Herrn Dr. E. Ruschitzka vom Forschungsinstitut Gastein sind wir für die liebenswürdige Überlassung ausreichender Versuchsmengen dieses Wassers besonders dankbar.

Tabelle 1.

Versuchs-nummer	Datum 1939	Lösungsmittel oder Brunnen	Gewicht der Mäuse g	Dosis mg/g	Gesamt-volumen der Injektion ccm	Ergebnis
1 a	20. V.	Aqua dest.	20	0,1	0,1	† nach 39 Min
			20	0,1	0,1	† „ 57 „
			17	0,1	0,085	† „ 37 „
1 b	20. V.	Schützenhof-quelle	19	0,1	0,095	überlebt
			17	0,1	0,085	† nach 43 Min.
			20	0,1	0,1	† „ 43 „
2 a	22. V.	Aqua dest.	17	0,1	1,0	überlebt
			24	0,1	1,0	„
			21	0,1	1,0	„
2 b	22. V.	Schützenhof-quelle	19	0,1	1,0	† nach 62 Min.
			20	0,1	1,0	überlebt
			22	0,1	1,0	„
3 a	23. V.	Aqua dest.	19	0,1	1,0*	† nach 58 Min.
			18	0,1	1,0*	überlebt
			19	0,1	1,0*	† nach 52 Min.
3 b	23. V.	Schützenhof-quelle	20	0,1	1,0*	† „ 78 „
			21	0,1	1,0*	† „ 102 „
			22	0,1	1,0*	† „ 79 „
4 a	1. VI.	Aqua dest.	15	0,125	1,0	† nach 80 Min.
			18	0,125	1,0	† „ 54 „
			20	0,125	1,0	† „ 63 „
4 b	1. VI.	Liebensteiner Heilquelle	21	0,125	1,0	† „ 30 „
			15	0,125	1,0	† „ 44 „
			16	0,125	1,0	überlebt
5 a	8. VI.	Aqua dest.	22	0,11	1,0	überlebt
			22	0,11	1,0	„
			20	0,11	1,0	„
5 b	8. VI.	Liebensteiner Heilquelle	25	0,11	1,0	„
			20	0,11	1,0	„
			23	0,11	1,0	„
6 a	13. VI.	Aqua dest.	26	0,125	1,0	überlebt
			20	0,125	1,0	„
			23	0,125	1,0	„
6 b	13. VI.	Gasteiner Wasser	28	0,125	1,0	† nach 42 Min.
			22	0,125	1,0	überlebt
			24	0,125	1,0	† nach einig. Std.
7 a	15. VI.	Aqua dest.	28	0,125	1,0	überlebt
			25	0,125	1,0	„
			26	0,125	1,0	† nach 120 Min.
7 b	15. VI.	Gasteiner Wasser	27	0,125	1,0	überlebt
			25	0,125	1,0	„
			26	0,125	1,0	„

* Bei diesen Versuchen wurde in der Spritze nach dem Aufziehen der Sparteinlösung durch weiteres Aufziehen des Lösungsmittels auf 1 ccm verdünnt. Die verwendete lange Kanüle zusammen mit dem Spritzenansatz enthalten 0,05 bis 0,06 ccm, d. h. etwa 1,2 mg Spartein, die also noch zu der angeführten Dosis hinzuzuaddieren sind.

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Versuchs-nummer	Datum 1939	Lösungsmittel oder Brunnen	Gewicht der Mäuse g	Dosis mg/g	Gesamt-volumen der Injektion ccm	Ergebnis
8 a	16. VI.	Aqua dest.	19	0,125	1,0	überlebt
			20	0,125	1,0	„
			20	0,125	1,0	„
8 b	16. VI.	Gasteiner Wasser	17	0,125	1,0	„
			29	0,125	1,0	„
			26	0,125	1,0	„
8 c	16. VI.	Tyrode-Iösung	22	0,125	1,0	„
			17	0,125	1,0	† nach 83 Min.
			21	0,125	1,0	† „ 71 „
9 a	22. VI.	Aqua dest.	23	0,15	1,0	† nach 43 Min.
			25	0,15	1,0	† „ 32 „
			22	0,15	1,0	† „ 63 „
9 b	22. VI.	Gasteiner Wasser	23	0,15	1,0	† „ 38 „
			24	0,15	1,0	† „ 47 „
			23	0,15	1,0	† „ 70 „
10 a	23. VI.	Aqua dest.	27	0,135	1,0	überlebt
			21	0,135	1,0	„
			20	0,135	1,0	„
10 b	23. VI.	Gasteiner Wasser	28	0,135	1,0	„
			23	0,135	1,0	„
			23	0,135	1,0	„

Tabelle 2.

Diese Mäuse erhielten 13 Tage lang vor der Sparteinvergiftung Leitungs- (11 a) bzw. Gasteiner Wasser (11 b) ad libitum zu trinken.

Versuchs-nummer	Datum 1939	Lösungsmittel oder Brunnen	Gewicht der Mäuse g	Dosis mg/g	Gesamt-volumen der Injektion ccm	Ergebnis
11 a	12. VIII.	Leitungs-wasser	22	0,15	1,0	überlebt
			20	0,15	1,0	„
			22	0,15	1,0	† nach 91 Min.
			28	0,15	1,0	† „ 129 „
11 b	12. VIII.	Gasteiner Wasser	23	0,15	1,0	† „ 30 „
			18	0,15	1,0	† „ 58 „
			20	0,15	1,0	überlebt
			29	0,15	1.0	† nach 40 Min.

Nach allen diesen negativen Ergebnissen der Versuche 1 bis 10 war in einem letzten Versuch 11, der in Tabelle 2 zusammengefaßt ist, zu prüfen, ob es nicht gelingen könnte, durch eine längere Zeit voraufgehende Tränkung mit dem Gasteiner Wasser etwa eine Umstimmung im Sinne einer Entgiftungsbereitschaft im Körper der Tiere hervorzurufen. Wir haben die Mäuse 13 Tage lang mit dem Mineralwasser getränkt (Vers. 11 b). Sie konn-

ten davon nach Belieben aufnehmen. Bei der Vergiftung mit Spartein zeigt sich dasselbe Bild wie bei den Tieren, die keine Vorbehandlung durchgemacht haben (Vers. 11a). Auch unter diesen Versuchsbedingungen trat keine Entgiftung ein.

Die Diskrepanz in dem Ergebnis unserer Versuche zu den positiven Befunden v. Dungerns[8] kann einmal durch das verschiedene Tiermaterial bedingt sein. Andererseits haben wir hier nur das Endergebnis (Tod oder Überleben) mitgeteilt und nicht die verschiedenen Symptome des Vergiftungsablaufs mit in die Beurteilung einbezogen.

Bei der Niederschrift erhalten wir Kenntnis von einer wichtigen Arbeit von Heite[15], der der Beurteilung seiner Versuche die bekannte Berechnung der wirksamen Dosen nach mathematisch-statistischen Prinzipien zugrunde legt. Auch ihm ist es nicht gelungen, eine Entgiftung von Spartein durch Mineralwasser ermitteln zu können.

Die vielfältigen durch Mineralisation bzw. Transmineralisation bedingten und von den Schulen Wiechowskis sowie Eichholtz' bearbeiteten Vorgänge im Organismus[16] bleiben für die hier angestrebten Entgiftungserscheinungen außer Betracht.

Zusammenfassung.

Bei der Verwendung eines größeren Tiermaterials lassen sich die von Glaser und Mitarbeitern des öfteren in den letzten Jahren behaupteten entgiftenden Wirkungen verschiedener Mineralwässer gegen Spartein nicht feststellen. Der Sparteinversuch an der Maus ist nicht zum Nachweis einer „entgiftenden" Wirkung von Mineralwässern geeignet.

---

[15] Heite, H.-J.: Klin. Wschr. **19**, I, 271, Nr. 12 (1940). — [16] Siehe dazu die neuerliche Zusammenstellung von Hintzelmann, die demnächst in der Wien. med. Wschr. erscheint.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Studien über Methämoglobinbildung.

XVIII. Mitteilung:

Der Kreisprozeß Phenylhydroxylamin—Nitrosobenzol.

Von

Fritz Jung.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 29. April 1940.)

I.

Methämoglobin wird im Tierkörper bei Vergiftung mit aromatischen Verbindungen auf katalytischem Wege gebildet. Als wirksame Umwandlungsprodukte des Anilins oder Nitrobenzols wurden das p-Aminophenol wie das Phenylhydroxylamin angesehen. Schon vor Jahren hat Heubner (1) erkannt, daß das erstere als Katalysator der Methämoglobinbildung wirken kann. Er nahm dazu ein Redoxsystem Chinonimin—Aminophenol an.

Ellinger (2) wie Lipschitz (3) haben die Aufmerksamkeit mehr auf das Phenylhydroxylamin gelenkt. In vitro wirkt dieses viel rascher als Aminophenol, Heubner, Rolf Meier und Rhode (7) stellten aber fest, daß es dabei nur im Verhältnis 1/1 mit dem Hämoglobin reagiert. Da dieser Befund eine katalytische Wirkung auszuschließen scheint, glaubte Schwedtke (4) die Bedeutung des Phenylhydroxylamins bei der Vergiftung als sekundär ansehen zu dürfen. Ein weiteres Argument bringen dazu Heubner und Lo-Sing (5), indem sie darauf hinweisen, daß die drei Dinitrobenzole in ihrer Reihenfolge bezüglich der Intensität der Methämoglobinbildung einerseits und der Bildung von Phenylhydroxylamin andererseits nicht übereinstimmen.

Später zeigte jedoch von Issekutz (6), daß das Phenylhydroxylamin in der lebenden Katze eine viel weitergehende Umwandlung des Blutfarbstoffs bewirkt als das Aminophenol. Er folgert daraus, daß die oben erwähnte Beweisführung gegen das Phenylhydroxylamin nicht zu Recht bestehen könnte. Ältere Befunde von Ellinger (2) wiesen übrigens in die gleiche Richtung.

Eine eigene eingehende Untersuchung der Reaktionsweise des Phenylhydroxylamins, wie seines Oxydationsproduktes Nitrosobenzol, zeigte, daß die von Heubner, Rolf Meier und Rhode (7) berichtete Reaktion des Phenylhydroxylamins mit Oxyhämoglobin zwei Stufen zusammenfaßt, von denen jedoch jede einzelne wichtig ist. Vor der allein berücksichtigten Azoxybenzolbildung liegt nämlich eine Oxydation des Phenylhydroxyl-

amins zu Nitrosobenzol und erst eine Sekundärreaktion dieser beiden Molekülarten führt zu dem Endprodukt. Nitrosobenzol ist nun deswegen besonders interessant, weil es mit Hämoglobin eine Anlagerungsverbindung bilden kann, was an anderer Stelle genauer geschildert wird. Sie wurde früher für reduziertes Hämoglobin gehalten und so zum Anlaß einer Vernachlässigung des Nitrosobenzols in der weiteren Untersuchung unseres Problems. Heute erscheint gerade es als Partner eines Kreisprozesses, der katalytisch zur Methämoglobinbildung führt. Der Übergang von Nitrosobenzol in Phenylhydroxylamin läßt sich z. B. mit Ascorbinsäure erreichen, während sich der umgekehrte Prozeß spontan in einer Oxyhämoglobinlösung abspielt.

Sind aber beide Verbindungen in der Tat Partner eines Kreisprozesses, so ist von ihnen auch eine etwa gleich starke Methämoglobinbildung im Tierkörper zu erwarten.

Nitrosobenzol wurde in unserem Institut von Petersen an der Katze geprüft. Bei subcutaner Verabreichung in ätherischer Lösung erzielte er eine rasch einsetzende und kräftige Wirkung. Doch waren Geschwindigkeit und Intensität keineswegs mit der nach Phenylhydroxylamin zu vergleichen. Immerhin war es überraschend, daß die in vitro kaum Methämoglobin bildende Verbindung in vivo zu so deutlichen Erscheinungen führte. (Die Versuche von Petersen wurden aus äußeren Gründen bisher nicht veröffentlicht.)

II.

Nitrosobenzol und Phenylhydroxylamin verhalten sich physikalisch ganz verschieden. Das erstere ist nur sehr wenig wasserlöslich, Phenylhydroxylamin dagegen schon in kaltem Wasser in beträchtlicher Menge löslich. Die Versuche von Petersen mit subcutanen Gaben in ätherischer Lösung erfüllten die für einen Vergleich wichtige Bedingung nicht, beide Substanzen in möglichst gleichförmiger Weise zu verabreichen. Zur besseren Erfüllung dieser Voraussetzung wählte ich die peritoneale Applikation öliger Lösungen, da es bekannt ist, daß aus dem Peritoneum die Resorption von Ölen recht gut und schnell erfolgt.

In allen Versuchen wurde frisch hergestelltes Phenylhydroxylamin verwandt. Das Nitrosobenzol war ein Industriepräparat, das vor der Verwendung mit Wasserdampf destilliert und umkristallisiert wurde. Beide Substanzen lagen also stets in schneeweißen, gut ausgebildeten Kristallen vor. Die abgewogene Menge wurde mit Sesamöl in einer Reibschale verrieben und dann sofort intraperitoneal verabreicht.

Das Methämoglobin wurde nach unserer schon öfters beschriebenen Methode bestimmt (8). Da in den vorliegenden Versuchen den Tieren sehr oft Blut entnommen wurde, war sie für eine sehr geringe Menge Blut abgeändert worden. 0,3 ccm des Blutes wurden sofort mit dem 10fachen Volumen Wasser hämolysiert. Nachdem im Bluthämolysat Gerinnung aufgetreten war, wurde das Fibrin durch Schütteln zur Abscheidung gebracht. Durch Abzentrifugieren erhielt man eine schön klare Lösung, die sofort ausgemessen wurde. Als Reagens diente kein reines

Kaliumcyanid, sondern eine gepufferte Lösung vom p_H 7. Die Ausmessung erfolgte in einer Mikrokiivette. — Mit diesem Verfahren vermeidet man stärkere Blutverluste der Versuchstiere.

Die Katzen erhielten je 2,5 mg des Giftes. Abb. 1 wie die Tabellen unterrichten über den Verlauf der Methämoglobinbildung. Die Tiere überstanden die nicht unerhebliche Vergiftung gut; daher konnte jedes Individuum auch für die zweite Substanz verwendet werden.

Nach den bisherigen Erfahrungen ist die Ratte gegen methämoglobinbildende Gifte viel weniger empfindlich. Daher wurde jeweils die doppelte Dosis wie an Katzen, nämlich 5 mg/kg verabreicht. Damit ergab sich eine

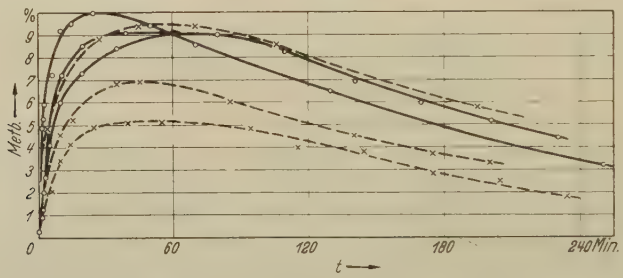


Abb. 1. Methämoglobinbildung durch Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol bei der Katze.
Phenylhydroxylamin: ausgezogen; Nitrosobenzol: gestrichelt.
Abszisse: Zeit nach der Gabe in Minuten.
Ordinate: % des gebildeten Methämoglobins (absolut, nicht auf das Hämoglobin bezogen).

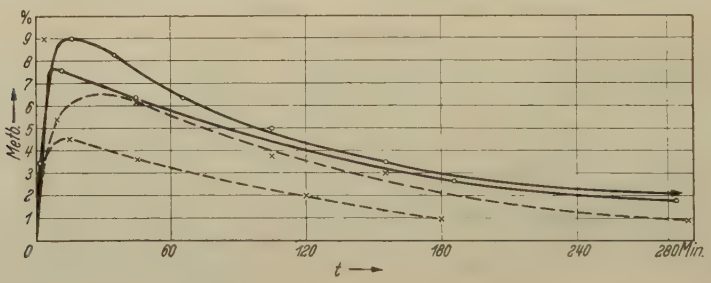


Abb. 2.
Methämoglobinbildung bei Ratten durch Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol.
Bezeichnung s. Abb. 1.

Methämoglobinbildung etwa von derselben Größenordnung. Das paßt gut zu Beobachtungen, die Gelinski in unserem Institut machte, daß Ratten das Methämoglobin auch etwa mit der doppelten Geschwindigkeit zurückbilden wie Katzen. (Im Druck.)

Den Ratten wurde in Urethannarkose die Carotis freigelegt und dann doppelt unterbunden. Das Gefäß wurde durchgeschnitten, das zentrale Ende vorgelagert und zur Blutentnahme benutzt. Bei sorgfältiger Behandlung konnte ohne große Gefahr einer Thrombose während mehrerer Stunden beliebig oft Blut entnommen werden. Die Tiere erholten sich meist gut von dem Eingriff.

Der Vergiftungsablauf bei Ratten ist in Abb. 2 festgehalten.

Aus dem Maximalwert jeder Kurve läßt sich bei beiden Tierarten das Verhältnis der Molzahl des angewandten Giftes zum umgewandelten Hämoglobin berechnen. Wenn man hierbei auch sicher zu niedrige Werte erhält als dem vollen Umsatz entspricht, so kann man danach doch die katalytische Wirkung beider Stoffe einschätzen. Für das Phenylhydroxylamin ergab sich bei der Katze etwa die Zahl 1/18, für das Nitrosobenzol 1/14; bei der Ratte etwa je die Hälfte.

III.

1. Wir entnehmen daraus zunächst, daß Nitrosobenzol und Phenylhydroxylamin Methämoglobin im Überschuß bilden. Beide Stoffe sind annähernd gleich wirksam. Der Abstand zu allen anderen in Frage kommenden und geprüften Anilinderivaten ist derartig groß, daß wir den geringen Unterschied ohne allzu große Bedenken aus dem verschiedenen physikochemischen Verhalten erklären können. Dabei mag noch erwähnt werden, daß im Interesse der Applikation einer unveränderten Substanz, die injizierten Lösungen partiell noch suspendierte, also gröber disperse Substanz enthielten. Insonderheit war die „Lösung" des Nitrosobenzols noch längst nicht so grün, wie sie bei längerem Stehen wurde.

2. Schon unmittelbar nach der Injektion des Giftes ließ sich Methämoglobin im Blute finden. Beide Verbindungen zeigen also in ihrer Wirkung praktisch keine Latenz. Größere chemische Umwandlungen vor ihrer Reaktion mit dem Hämoglobin dürften wohl als ausgeschlossen gelten.

3. Bei beiden Stoffen ist der Verlauf der Methämoglobinbildung etwa parallel und deutlich verschieden von dem z. B. nach Nitriten. Er wird also wohl durch dieselben Gesetzmäßigkeiten bestimmt.

4. An den ersten Blutproben zeigte sich eine sehr auffällige Erscheinung. Das entnommene Blut dunkelte im Reagensglas sehr rasch nach. Die Methämoglobinbildung war also noch nicht am Ende. Besonders bei den Ratten war das Phänomen schön zu sehen. Man darf also die ersten Punkte der wiedergegebenen Kurve (vgl. Abb. 2) nicht als Methämoglobinwerte des lebenden Tieres zu dem gegebenen Zeitpunkt auffassen. 5 Minuten nach dem Eintritt der Vergiftung war aber die Erscheinung vorüber. Auch das Nitrosobenzol zeigte das Nachdunkeln. Aus der Beobachtung folgt, daß die für die katalytische Umsetzung erforderlichen Bedingungen und Substanzen längere Zeit im Blute selbst erhalten bleiben.

Aus diesen Versuchen können wir also schließen, daß die Wirksamkeit des Nitrosobenzols und Phenylhydroxylamins als Methämoglobinbildner etwa von der gleichen Intensität ist. Es steht also nichts im Wege, beide als Partner des postulierten Kreisprozesses anzusehen.

Stellt man sich nun die Frage, in welcher Phase des Übergangs Phenylhydroxylamin—Nitrosobenzol die Methämoglobinbildung stattfindet, so könnte es a priori ebenso bei der Oxydation des Phenylhydroxylamins

wie bei der Reduktion des Nitrosobenzols sein. Folgender Versuch sollte eine gewisse Entscheidung darüber bringen.

Einer Ratte wurde 1 ccm einer Lösung von gereinigtem Nitrosobenzol-Hämoglb. (Pferdehämoglobin) intravenös verabreicht. Sofort anschließend wurde das Blut entnommen und nach Zusatz von Oxalat zentrifugiert. Es zeigte sich, daß das Hämoglobin der Blutkörperchen etwa zum gleichen Teil in Methämoglobin übergegangen war wie das Hämoglobin, das künstlich ins Plasma gebracht worden war. Da das Nitrosobenzol aber erst vorzugsweise an diesem gehaftet hatte, wäre anzunehmen gewesen, daß dieses vollständig in Methämoglobin übergegangen wäre, wenn das Methämoglobin bei der Reduktion des Nitrosobenzols sich bilden würde. Deshalb ist zu vermuten, daß aus dem Nitrosobenzolhämoglobin erst der eigentliche Methämoglobinbildner entstand, der dann, im Blute frei diffusibel, ebenso in den Zellen zur Wirkung kam wie im Plasma. Wahrscheinlich bildet sich das Methämoglobin bei der Oxydation des Phenylhydroxylamins.

Wenn wir aber hier Nitrosobenzol und Phenylhydroxylamin als die beiden Pole eines Kreisprozesses hinstellen, so schließt das keineswegs aus, daß der eigentlich wirksame Kreisprozeß noch kürzer über intermediär gebildete Stoffe verläuft. Die immer noch bestehende Differenz der Wirkung von Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol kann hier als Argument angesehen werden. Radikale als solche Zwischenstufen lassen sich durchaus denken, doch nicht fassen.

IV. Versuche mit verwandten Verbindungen.

Um die im vorstehenden entwickelte Ansicht weiter zu stützen, wurden noch einige verwandte Verbindungen an der Ratte auf ihre Fähigkeit zur Methämoglobinbildung geprüft. Dieses Tier stellt bei seiner geringen Empfindlichkeit ein geeignetes Testobjekt dar, Stoffe von großer Wirksamkeit aufzufinden. Die einzelnen Stoffe wurden in derselben Weise und denselben Konzentrationen geprüft, wie ich es oben angegeben habe. Wie bereits erwähnt, konnte in keinem Fall eine so starke Wirksamkeit gesehen werden wie bei den oben besprochenen Verbindungen.

a) p-Aminophenol. Wie schon v. Issekutz (6) feststellte, kann dieser Verbindung in unseren Überlegungen nicht mehr die zentrale Rolle zugeschrieben werden wie früher. Sein zugehöriges Chinon ist das p-Chinonimin, das ich mir durch Oxydation des Aminophenols mit trockenem Silberoxyd herstellte*. Es bildet im Reagensglas sofort Methämoglobin. Da Chinonchlorimid leichter zugänglich ist, wurde es außer in vitro, wo es die äquivalente Menge Hämoglobin umsetzt, auch in vivo geprüft [vgl. auch Lipschitz (3)]. Wie sich aus der Tabelle 2 ergibt, ist an der Ratte Chinonchlorimid ohne jeden Erfolg und p-Aminophenol nur schwach wirksam. Damit tritt es an Bedeutung für die katalytische Methämoglobinbildung sehr zurück.

b) Azoxybenzol und Hydrazobenzol. Von Heubner, Rolf Meier und Rhode (7) war gegen die Wirksamkeit des Phenylhydroxylamins geltend gemacht worden, daß es im Blute sehr rasch in Azoxybenzol

* Diese wie die folgenden Substanzen wurden nach Verfahren der Literatur selbst hergestellt.

übergeht. Diese Verbindung kann einer Ratte in sehr großer Menge ohne Schaden verabreicht werden. Auch in vitro bildet sie kein Methämoglobin. Trotzdem konnte man daran denken, daß es in vivo unter den besonderen Verhältnissen seiner Bildung (z. B. infolge feiner Verteilung) aktiv werden könne. Als zweiter Partner eines Kreisprozesses käme dann das Hydrazobenzol in Betracht, weshalb dieses auch zur Prüfung herangezogen wurde. Heubner (10) hatte es in vitro als kräftigen Methämoglobinbildner erkannt. Doch war es in vivo, wie der Versuch zeigt, wirkungslos.

c) Nitrosophenol und Nitrosodimethylanilin. Nachdem wir im Nitrosobenzol einen kräftigen Methämoglobinbildner kennengelernt hatten, fragten wir uns, ob diese Wirkung eine Eigenschaft der Nitrosogruppe ganz allgemein sein könnte. Nitrosotoluol verhielt sich in vitro nicht anders wie Nitrosobenzol. Ein Versuch mit Nitrosophenol dagegen hatte ein völlig negatives Ergebnis. Ich konnte keine Spur einer Dunkelfärbung des Blutes sehen, nur eine langsame Methämoglobinbildung war zu beobachten. Auch in vivo war es wirkungslos.

Als leicht zugänglicher Nitrosokörper wurde noch Nitrosodimethylanilin dargestellt. Zur Verwendung kamen die prachtvoll grünen Kristalle der freien Base. Schon in vitro zeigte sich, trotz langer Einwirkungszeit, kaum eine Methämoglobinbildung. In vivo war die Verbindung auch unwirksam, dafür aber waren entsprechend den verabreichten großen Mengen andere Vergiftungserscheinungen, nämlich zentrale Erregungszustände, zu sehen.

Der überraschende Befund läßt sich vielleicht durch die Tatsache verstehen, daß beide Stoffe nicht unbedingt als Nitrosoverbindungen formuliert werden müssen. Sie sind beide chinoid denkbar und sehr kräftig gefärbt. Auch mit ascorbinsäurehaltigem Blut gab Nitrosodimethylanilin kein Methämoglobin.

d) Mesitylhydroxylamin. Obwohl diese Verbindung in vitro Methämoglobin bildet, war sie in vivo unwirksam. Wir schreiben dies seiner viel größeren Reaktionsträgheit zu (sterische Hinderung). Nitrosomesitylen läßt sich z. B. nicht mehr durch Titantrichlorid reduzieren, geschweige denn durch Ascorbinsäure (11).

V.

Das System Phenylhydroxylamin—Nitrosobenzol steht also für die Methämoglobinbildung durch aromatische stickstoffhaltige Verbindungen im Vordergrund des Interesses. Dem stehen jedoch noch die oben, S. 208, erwähnten Befunde an den Dinitrobenzolen gegenüber (5). Die Chemie dieser Stoffe hat in den letzten Jahren einige Fortschritte gemacht. So ist unter anderem die Darstellung des reinen o- wie p-Nitrophenylhydroxylamins geglückt (11). Wenn wir von den nunmehr bekannten Eigenschaften der einzelnen Nitronitrosobenzole und Nitrophenylhydroxylamine aus-

gehen, so lassen sich Vergiftungsablauf und Intensität in ihren Verschiedenheiten bei den drei isomeren Dinitrobenzolen erklären, ohne mit der Annahme in Widerspruch zu geraten, daß auch hier ein Hydroxylamin—Nitrososystem die maßgebliche Rolle spielt.

1. In den Versuchen von B. v. Issekutz (6) zeigte sich, daß die o- wie die p-Verbindung eine viel rascher einsetzende und weniger lang anhaltende Wirkung haben wie die m-Verbindung. Dazu gesellt sich die Erkenntnis, daß sich p- wie o-Dinitrobenzol mit Leichtigkeit durch Ascorbinsäure, aber auch schon durch Zucker zu den entsprechenden Phenylhydroxylaminen reduzieren lassen. Diese sind aber sehr kräftige Methämoglobinbildner. m-Dinitrobenzol ist wesentlich reaktionsträger. Ferner gibt p- und o-Nitronitrosobenzol zu Hämoglobin gesetzt sofort Methämoglobin, während es bei m-Nitronitrosobenzol erst eine gewisse Zeit dauert, wie schon Lipschitz (3) beschrieben hat. Wenn wir einen Vergleich mit einfacheren Verbindungen heranziehen wollen, so verhält sich das letztere, in vivo wie chemisch, mehr wie Nitrobenzol, während die beiden anderen Isomeren in ihrer Reaktionsfähigkeit dem Nitrosobenzol näherstehen.

2. Das p-Dinitrobenzol war in vivo viel wirksamer als die o-Verbindung. Nun ist nach der Erfahrung von Kuhn und Weygand (11) das o-Nitrophenylhydroxylamin eine sehr unbeständige, an der Luft kaum haltbare Substanz.

Um aber eine katalytische Methämoglobinbildung zu bewirken, muß das katalytische System auch eine gewisse Beständigkeit im Blute besitzen. Bei o- wie p-Dinitrobenzol wird es im Blute rasch gebildet, verschwindet aber bei o-Dinitrobenzol viel schneller wieder als bei der p-Verbindung. So erklärt sich die geringfügige Wirkung, die von Heubner und Lo-Sing (5) wie von B. v. Issekutz (6) bei o-Dinitrobenzol gefunden wurde. m-Dinitrobenzol bildet das katalytische System nur langsam, dieses ist aber dann auch — entsprechend den Eigenschaften des m-Nitrophenylhydroxylamins — sehr beständig. Dieses chemische Verhalten spiegelt sich in den Versuchen von B. v. Issekutz (6) an lebenden Katzen vollkommen wider.

Tabelle 1.

Katze 2 kg. 20 mg Phenylhydroxylamin in 4 ccm Öl, davon werden 1 ccm = 5 mg gegeben, also 2,5 mg/kg.

Zeit der Blutentnahme	0	0,5	1	1,5	3	7	10	15	25	70	130	250 Min.
% Methämoglobin	0,16	2,7	4,9	5,3	5,9	7,2	9,2	9,5	10,0	8,5	6,5	3,3

Blutvolumen der Katze 140 ccm (70 ccm/kg), das ergibt für den Höchstwert an Methämoglobin 10% = 14 g, was $0{,}9 \cdot 10^{-3}$ Val entspricht. Für die zugegebene Menge Phenylhydroxylamin $\backsim 0{,}05 \cdot 10^{-3}$ Mol ergibt das das Verhältnis 1/18.

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Katze 2,2 kg, ebenfalls 2,5 mg/kg.

Zeit der Blutentnahme	0	2	5	10	15	25	35 Min.
% Methämoglobin.....	0,1	2,0	2,8	7,5	8,5	8,8	8,5

Nach 35 Minuten blieb der Methämoglobingehalt konstant, das Tier befand sich übel und starb nach 4 Stunden.

Blutvolumen 150 ccm, am Maximum sind 8,8% = 13,1 g Methämoglobin entstanden. Das entspricht $0{,}82 \cdot 10^{-3}$ Val und ergibt ein Umsetzungsverhältnis 1/16.

Katze 2,7 kg erhält 2,4 mg Phenylhydroxylamin pro kg.

Zeit der Blutentnahme..	0	1	4	6	10	20	35	80	110	140	170	200	230 Min.
% Methämoglobin	0,08	0,97	2,75	4,2	6,0	7,3	8,5	9,2	8,3	6,7	6,0	5,2	4,5

Blutvolumen 190 ccm, am Maximum 9,2% Methämoglobin = 17,5 g entsprechen $1{,}1 \cdot 10^{-3}$ Val. Für die verabreichten 6 mg Phenylhydroxylamin ergibt das das Verhältnis 1/20.

Katze 2,3 kg erhält 5 mg = 2,2 mg/kg Nitrosobenzol.

Zeit der Blutentnahme	0	7	3	10	15	25	40	55	85	115	145	175	205	235	325 Min.
% Methämogl.	0,06	1,2	2,0	3,5	4,1	4,8	5,0	5,0	4,8	4,0	3,7	2,8	2,5	1,8	1,2

160 ccm Blut. Es werden 5% Methämoglobin = 8 g gebildet, das entspricht $0{,}5 \cdot 10^{-3}$ Val und einem Molverhältnis 1/11.

Katze 2,0 kg erhält 5 mg = 2,5 mg/kg.

Zeit der Blutentnahme	0	2	5	10	30	45	70	105	195	315 Min.
% Methämoglobin.....	—	1,8	4,25	5,4	8,5	9,4	9,4	8,5	5,8	4,5

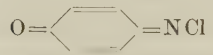
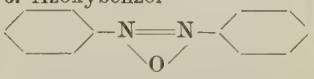
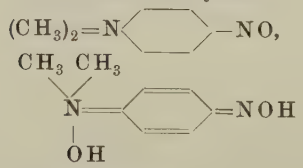
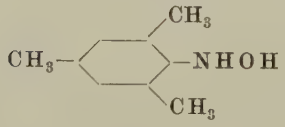
140 ccm Blut. Es werden 9,4% Methämoglobin gebildet, das sind 13 g und $0{,}8 \cdot 10^{-3}$ Val. Es ergibt sich das Verhältnis 1/16.

Katze 2,1 kg. 5 mg = 2,4 mg/kg.

Zeit der Blutentnahme .	0	2	5	9	15	25	35	45	85	140	175	200	280 Min.
% Methämoglobin	0,18	1,8	3,1	4,6	5,2	5,4	6,8	6,8	5,0	4,4	3,8	3,4	3,2

150 ccm Blut. Es werden 6,8% Methämoglobin gebildet, das sind 10 g und $0{,}6 \cdot 10^{-3}$ Val. Es ergibt sich das Verhältnis 1/12.

Tabelle 2.

Verbindung	Verabreichte Menge und Zeitpunkt	Erfolg
1. p-Aminophenol	10 mg/kg Ratte	Kein Methämoglobin
2. p-Aminophenol	10 mg/kg Ratte	Kein Methämoglobin
3. p-Aminophenol	20 mg/kg Ratte	Schwacher Methämoglobinstreifen nach 15—20 Min., der bald wieder verschwindet.
4. p-Aminophenol	20 mg/kg Ratte	
5. Chinonchlorimid 	5 mg/kg Ratte	Kein Methämoglobin während mehrerer Stunden
6. Azoxybenzol 	> 40 mg/kg Ratte	Keine Vergiftungserscheinungen, keine Methämoglobinbildung
7. Hydrazobenzol	1,25 mg/kg Ratte, nach 100 Min. weitere 25 mg/kg	Kein Erfolg, ebenfalls keine Methämoglobinbildung
8. Hydrazobenzol	Wiederholung 20 mg/kg, nach 2 Std. noch 60 mg/kg!	Ebenfalls erfolglos
9. Nitrosophenol	5 mg/kg, wie nach 1 Std. weitere 10 mg/kg	Keine Methämoglobinbildung
10. p-Nitrosodimethylanilin 	8 mg/kg, nach 60 Min. 12 mg/kg	Das narkotisierte Tier wird unruhig. Kein Methämoglobin. Zuckungen. Kein Methämoglobin während der nächsten 4 Stunden. Nach der Tötung ist alles resorbiert.
11. Wiederholung	10 mg/kg	
12.—14. Mesitylhydroxylamin 	5—50 mg/kg Ratte intraperitoneal	In keinem Fall Methämoglobinbildung

Zusammenfassung.

1. An Katzen und Ratten wird der Verlauf der Methämoglobinbildung nach Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol verfolgt und daraus auf einen Kreisprozeß bei der Methämoglobinbildung über diese beiden Stoffe geschlossen.

2. In derselben Anordnung werden noch einige andere Verbindungen geprüft. Ihre geringfügige oder fehlende Wirkung stützt die Folgerungen für die unter 1. genannten Verbindungen.

3. Der anzunehmende Kreisprozeß erklärt die katalytische Umsetzung des Blutfarbstoffs durch kleine Mengen Anilin oder Dinitrobenzol und damit die Gefährlichkeit dieser Stoffe.

Literatur.

1) Heubner, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **72**, 239 (1913). — 2) Ellinger: Z. physiol. Chem. **111**, 86 (1920). — 3) Lipschitz: Ebenda **109**, 189 (1920). — 4) Schwedtke: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 121 (1937). — 5) Heubner, W., u. Lo-Sing: Ebenda, S. 143. — 6) v. Issekutz, B.: Ebenda **183**, 551 (1939). — 7) Heubner, Rolf Meier u. Rhode: Ebenda **100**, 149 (1923). — 8) Havemann, Jung, v. Issekutz: Biochem. Z. **301**, 116 (1939). — 9) Heubner u. R. Meier: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **100**, 137 (1923). — 10) Kuhn u. Weygand: Ber. chem. Gesell. **69**, 1969 (1936); R. E. Lutz u. M. R. Lytton: J. Org. Chemistry nach Chem. Zbl. **108**, II, 2817 (1937); Antener, Ilse: Helvet. Chim. Acta **21**, 812 (1938).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Über die Verstärkung der Azetylcholinwirkung am Blutegelpräparat durch Aneurin.

Von

Franz v. Brücke und **Hans Sarkander.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 27. April 1940.)

Eine kürzlich erschienene Arbeit von W. Riechert und H. Hübschmann[1] über die Wirkungen des Vitamins B_1 und verschiedener Aneurinester auf die Rückenmuskulatur des Blutegels und andere Testobjekte, veranlaßt uns einige Beobachtungen mitzuteilen, die wir mit Aneurin am Blutegel gemacht haben.

Bekanntlich hat B. Minz[2] gefunden, daß Aneurin unter gewissen Voraussetzungen die Azetylcholinkontraktur des mit Eserin empfindlich gemachten Rückenmuskels des Blutegels verstärkt. Die Azetylcholinwirkung ist jedoch, wie E. Werle und H. Übelmann[3] zeigen konnten und wie dies auch in Abb. 1 zum Ausdruck kommt, von der H-Ionenkonzentration abhängig. Da nun Aneurinlösungen (die Minz[2] in recht hoher Konzentration verwendet) sauer reagieren, konnte der Sensibilisierungseffekt unspezifisch sein. Wir haben daher die Versuche an Blutegeln mit gepufferten Ringerlösungen (m/30 Phosphatpuffer nach Sörensen) wiederholt.

Wie die beigefügten Kurven zeigen, war die kontraktursteigernde Wirkung in unseren Versuchen mit Aneurinkonzentrationen, die noch unter den von Riechert und Hübschmann verwendeten lagen, stets eindeutig. Notwendig hierfür ist es allerdings, Aneurin gleichzeitig mit Azetylcholin einwirken zu lassen. Aus den Kurven *a*—*d* in Abb. 1 ist jedoch zu sehen, daß bei saurer Reaktion und Verwendung von schwachen Aneurinkonzentrationen die Steigerung der Azetylcholinwirkung sehr gering sein kann (vgl. *a* und *b*). Wird dagegen der Versuch bei alkalischer Reaktion wiederholt, dann fällt er positiv aus (vgl. *c* und *d*). Wiederholtes Einfüllen von Azetylcholin + Aneurin steigert die Wirkung noch weiter.

---

[1] Riechert, W., u. H. Hübschmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 539 (1940). — [2] Minz, B.: C. r. acad. Sci. Paris **205**, 576—577 (1937); **127**, 1251 (1938); a. a. O. — [3] Werle, E., u. H. Uebelmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 421 (1938).

Riechert und Hübschmann haben nun für Azetylaneurin eine abschwächende Wirkung gegenüber Azetylcholin beschrieben. Wie aus

Abb. 1. Der Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf die Azetylcholinkontraktur des Blutegelrückenmuskels und deren Verstärkung durch das Vitamin B_1. (Alle Reaktionen = 3 Min.)
1 und 2 bei p_H 6,97 mit Azetylcholin 1 : 2 . 10^8. Bei 2 ein Zusatz von Aneurin 1 : 2 . 10^4. 3 und 4 = Wiederholung des gleichen Versuchs bei p_H 4,49. 5: Die gleiche Azetylcholinmenge bei p_H 4,49 ohne Aneurin.
Reaktion *a* und *c* = Azetylcholin 1 : 2 . 10^8 bei p_H 4,94 und 8,04.
Reaktion *b* und *d* das gleiche mit Zusatz von 1 : 10^5 Aneurin.

Abb. 1 ihrer Arbeit hervorgeht, haben sie stets in den Pausen zwischen zwei Azetylcholinauswertungen Aneurin oder seine Ester einwirken lassen. Bei diesem Vorgehen haben auch wir mit Aneurin eine Abschwächung der

Blutegelreaktion, allerdings in etwas höheren Konzentrationen, beobachtet. Die Wirkung ist also nicht für Azetylaneurin spezifisch. Sehr schön bringt man schon mit schwachen Aneurinkonzentrationen die Abschwächung der Azetylcholinwirkung zur Darstellung, wenn man, wie dies in Abb. 1 gezeigt wird, zunächst eine Azetylcholinreaktion bei einem bestimmten p_H registriert, dann die gleiche Reaktion mit Zusatz von Aneurin schreibt (Steigerung) und dann wieder die anfängliche Azetylcholinkonzentration ohne Aneurin einwirken läßt. Die letzte Azetylcholinwirkung ist dann stets erheblich abgeschwächt (vgl. 3 und 4 mit 5).

Im übrigen konnten auch wir, ebensowenig wie Riechert und Hübschmann in einem Kaninchenversuch, bei dem wir das E. K. G. registrierten, eine Verstärkung der vagalen Reizwirkung des Azetylcholins durch Aneurin beobachten. Wir sind der Meinung, daß es noch vieler Untersuchungen bedürfen wird, ehe man sich den weitgehenden Folgerungen aus den Minzschen Versuchen anschließen könnte.

Aus dem Pharmakol. Institut der Martin Luther-Universität Halle-Wittenberg.
(Direktor: Prof. Dr. med. Otto Geßner.)

Über Azorhodan.

Von

Otto Geßner und **Hans-Joachim Haack.**

(Eingegangen am 3. Mai 1940.)

H. Riedel[1] berichtete 1937 in einer aus dem Berliner Pharmakologischen Institut hervorgegangenen Dissertation über Resorption, Schicksal im Körper und Ausscheidung einiger Azokörper, unter denen sich auch das als Azorhodan bezeichnete Monorhodanid von 2, 4-Diaminoazobenzol[2] befand.

Dieses Azorhodan haben wir dann im ersten Halbjahr 1939 näher pharmakologisch untersucht, wobei auf örtliche Reizwirkung, lokalanaesthetische Wirkung, Diffusion, Resorption und Ausscheidung geachtet wurde, vor allem aber die Toxizität für verschiedene Tierarten, die Wirkung auf Blutdruck und Atmung sowie auf überlebende isolierte Einzelorgane geprüft wurde.

Aus äußeren Gründen sind diese Untersuchungen bisher nur im Rahmen der Dissertation meines Mitarbeiters H.-J. Haack[3] erschienen, aber noch nicht veröffentlicht worden. Inzwischen sind in diesem Archiv zwei Mitteilungen von H. Riedel[4] über Azorhodan erschienen, in denen auf die Dissertation von Haack Bezug genommen wird. Es sollen daher nunmehr die Ergebnisse unserer in den Monaten Februar bis Mai 1939 durchgeführten und von dem einen von uns (Geßner) im Juni und Juli 1939 noch ergänzten Untersuchungen über Azorhodan mitgeteilt werden.

Hinsichtlich der Herstellung der Lösungen und der Einzelheiten der Versuchsanordnung kann auf Haack[3] verwiesen werden.

Die Versuche, die von Haack bereits mitgeteilt wurden, sind mit wässerigen, ohne Erwärmen hergestellten Azorhodanlösungen (ausgehend von der höchstmöglichen Konzentration 1 : 5000) durchgeführt worden. Für die Diffusionsversuche an toten Membranen verwendeten wir Azorhodan in Aqua destillata, für die Versuche mit Mücken- und Amphibienlarven Azorhodan in Leitungswasser, für die übrigen Versuche Azorhodan in absichtlich bicarbonatfreier Kalt- bzw. Warmblüterringerlösung*. Bei den Durchströmungsversuchen am Läwen-Trendelenburgschen Froschgefäßpräparat war der Kaltblüterringerlösung 1‰ Glykokoll zugesetzt.

---

[1] Riedel, H.: Inaug. Diss. Berlin 1937. — [2] DRP. 643343 der Firma Dr. Hubold u. Bartsch, Grünheide. — [3] Haack, H. J.: Inaug. Diss. Halle 1939. — [4] Riedel, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 190, 613 (1940).

* Das p_H von Azorhodan 1 : 5000 in Kalt- bzw. Warmblüterlösung betrug nach elektrometrischer Bestimmung 6,85 (abgerundeter Wert).

Bei den Toxizitätsversuchen wurden außer den wässerigen Azorhodanlösungen zur intramuskulären Einspritzung gesättigte Azorhodanlösungen in Olivenöl (etwa 1:500) und zur subcutanen Einspritzung auch Suspensionen (1%) von Azorhodan in Ringerlösung benutzt.

In den bei Haack[3] noch nicht aufgeführten Ergänzungsversuchen vom Juli 1939 wurde Azorhodan (2%, 5%) in Aceton zugeführt. Durch Verwendung dieser acetonigen Lösungen gelang es — unter Heranziehung entsprechender Kontrollversuche mit Aceton allein —, die mit der höchstmöglichen wässerigen Azorhodanlösung nicht zu ermittelnde Dos. let. min. intravenös am Kaninchen festzustellen, während an der Maus derartige Versuche wegen der toxischen Wirkung selbst der kleinen Acetonmengen (bis 0,25 ccm) nicht zum Ziele führten.

Auf die Wiedergabe der Versuchsprotokolle wird, soweit sie in der Dissertation von Haack[3] zu finden sind, verzichtet, auch hinsichtlich weiterer Einzelheiten kann dorthin verwiesen werden.

Ergebnisse.

Diffusion. Durch Cellophanmembranen und durch überlebende Froschhäute trat Azorhodan (1 : 5000) schnell hindurch, an der Froschhaut gleich gut in beiden Richtungen. Dabei fand eine starke Anfärbung der Membranen statt, die bei der Froschhaut schneller und vollständiger auswaschbar war als bei den Cellophanmembranen.

Resorption. Azorhodan wurde aus Lösungen, auch aus Suspensionen (hier aber unvollständig) schnell resorbiert und im Gewebe bis zu einem frühzeitig eintretenden Maximum sichtbar angereichert. Am Froschgefäßpräparat, am isolierten Froschherzen, Froschmuskel und Froschnerven zeigte sich, daß die größte Menge orangegelben Farbstoffs gleich im Beginn der Einwirkung abgelagert wurde. Es handelt sich hierbei offenbar um eine Adsorption, da Azorhodan sehr leicht an Tierkohle adsorbiert wird. Im übrigen nahm die Intensität der Färbung mit steigender Azorhodankonzentration zu. Bei den Larven, die in die Azorhodanlösung hineingesetzt wurden, färbte sich schnell die gesamte Körperoberfläche, aber auch die inneren Organe wurden infolge der raschen Resorption bald angefärbt.

Ausscheidung. Sowohl an der isolierten Froschhaut und an den isolierten Organen als auch am ganzen Tier ließ sich die schnelle Wiederausscheidung von Azorhodan bzw. von Zersetzungsprodukten des Azorhodans (Riedel[1,5]) leicht verfolgen. Bei peroraler und parenteraler Zufuhr von Azorhodan wurde der Harn schnell gefärbt, die Ausscheidungsgröße war abhängig von der zugeführten Menge und von der Applikation. Am schnellsten erschien Farbstoff im Harn nach intravenöser Einspritzung, am spätesten nach peroraler Zufuhr, nach der aber die Ausscheidung am längsten anhielt.

Örtliche Reizwirkung fehlte selbst nach Einträufeln von Azorhodanlösung 1 : 5000 in das empfindliche Kaninchenauge. Sogar nach Einstäuben von feingepulvertem Azorhodan in den Bindehautsack des

Kaninchenauges trat nur geringe Hyperämie und Steigerung der Sekretion, aber keine Gewebsschädigung, insbesondere keine Hornhautschädigung auf. Bei subcutaner Einspritzung von Azorhodanlösung 1 : 5000 oder von 1%igen Azorhodansuspensionen an Fröschen (Bauchlymphsack), Mäusen und Kaninchen, ferner bei intramuskulärer Injektion gesättigter öliger Azorhodanlösung am Meerschweinchen fehlten Reizerscheinungen ebenfalls. Das aus den Suspensionen nicht resorbierte Azorhodan blieb, ohne Gewebsschädigung zu verursachen, an der Einspritzstelle unter starker Anfärbung des umliegenden Gewebes liegen.

Toxizität.

a) Rote Mückenlarven ertrugen 14stündiges Verweilen in Azorhodan 1 : 5000.

b) Amphibienlarven (Larven des Feuersalamanders) wurden durch Azorhodan bis 1 : 500000 trotz 48stündiger Einwirkungszeit nicht sichtbar beeinflußt. Azorhodan 1 : 100000 war bei 3 Wochen alten Larven innerhalb 24 Stunden ohne Wirkung, erzeugte aber bei 1 Tag alten Larven in 7 Stunden reversible Lähmung. Azorhodan 1 : 50000 tötete innerhalb 48 Stunden weder alte noch junge Larven, 1 : 25000 tötete nur die jungen Larven, aber erst nach 30 Stunden. Azorhodan 1 : 20000 lähmte die alten Larven in 4 Stunden, junge in 55 Minuten, und tötete beide innerhalb 30 Stunden (irreversibler Herzstillstand). Krämpfe wurden niemals beobachtet.

c) Frösche (Rana temporaria und esculenta) im Gewicht von 30 bis 40 g blieben nach Injektion von 1,5 ccm Azorhodanlösung 1 : 5000, aber auch nach Einspritzung von 1 ccm einer 1%igen Suspension von Azorhodan in den Bauchlymphsack unbeeinflußt. Höhere Dosen wurden nicht angewendet.

d) Mäuse (männliche Tiere von 20—22 g) zeigten nach subcutaner Einspritzung von Azorhodan in Lösung (größtmögliche Menge = 0,01 g/kg) bzw. in 1%iger Suspension (größte zugeführte Menge = 0,6 g/kg) keine Vergiftungserscheinungen, ebenso blieb intravenös die größtmögliche Menge von Azorhodan in Lösung (0,5 ccm 1 : 5000 bei 21 g Tier = 0,005 g/kg) wirkungslos. Wir versuchten daher, mit Azorhodan in Aceton gelöst zum Ziel zu kommen.

Versuch vom 30. Juni 1939. Maus, männlich, 20,7 g, erhält 0,125 ccm 5%iges Azorhodan in Aceton = 0,3 g/kg intravenös. Diese Dosis wird überstanden, die nach der Injektion auftretende starke Beschleunigung der Atmung ist, wie Kontrollversuche mit reinem Aceton zeigen, auf Aceton zu beziehen.

Die D. l. m. ließ sich aber auf diesem Wege nicht erreichen, da Aceton in wenig höherer Dosis (0,15 ccm/20 g Maus = rund 6 g/kg) bereits für sich allein tödlich wirkte.

e) Kaninchen vertrugen peroral 0,2 g/kg ohne sichtbare Vergiftungserscheinungen. Höhere Dosen wurden peroral nicht verabreicht.

Subcutan wurde, da wegen der geringen Wasserlöslichkeit nur sehr kleine Dosen von Azorhodan in echter Lösung hätten gegeben werden können, Azorhodan in 1%iger Suspension in Ringer zugeführt. Bei einem 2,39 kg schweren Kaninchen blieben 10 ccm einer 1%igen Azorhodansuspension = etwa 0,04 g/kg wie zu erwarten völlig wirkungslos. Intravenös sahen wir nach 10 ccm Azorhodan 1 : 5000 bei einem 2,19 kg schweren Tier (= 0,0009 g/kg) wie vorauszusehen auch keine Wirkung. Auch eine Dauerinfusion von 50 ccm Azorhodan 1 : 5000 in die Vena jugularis eines 2,69 kg schweren urethanisierten Kaninchens (2 ccm/Min.) mußte, da damit nur 0,004 g/kg erreicht wurden, noch subletal bleiben. Wir griffen daher, wie bei den Mäusen, zu acetonigen Azorhodanlösungen, und zwar verwendeten wir 2- und 5%ige Lösungen.

Versuch vom 30. Juni 1939. Kaninchen Nr. 100, 2,28 kg, erhält 1,12 ccm 5%iges Azorhodan in Aceton = 0,025 g/kg intravenös (60 Sekunden Injektionsdauer). Während der Einspritzung treten Kaukrämpfe auf, nach Beendigung der Einspritzung sitzt das Tier zwar noch aufrecht, schwankt aber erheblich. Innerhalb einer weiteren Minute Seitenlage, heftige tonische Krämpfe mit Opisthotonus. Der Kornealreflex ist erloschen, die Atmung, die zuerst (während der Injektion und kurz nach Beendigung der Einspritzung) sehr beschleunigt war (Acetonwirkung!), ist nicht mehr wahrnehmbar, die Augäpfel treten heraus. Anschließend noch einige Schnappatemzüge, klonische (Erstickungs-?) Krämpfe und endgültiger Atemstillstand 4 Minuten nach Beendigung der Einspritzung. Der Herzschlag kann noch 9 Minuten länger beobachtet werden.

Da in einem weiteren Versuch mit 2%iger Azorhodanlösung in Aceton ebenfalls 0,025 g/kg tötete und da mit mehreren höheren Dosen (2 und 5%) stets der Tod herbeigeführt wurde, 0,023 g/kg aber ebenso wie 2,5 ccm Aceton allein (höhere Acetongaben hier nicht geprüft) außer Beschleunigung der Atmung und vorübergehender Ataxie keine besonderen Vergiftungserscheinungen hervorriefen, kann die D. l. m. von Azorhodan für das Kaninchen bei i. v. Injektion mit 0,025 g/kg angenommen werden.

Blutdruck und Atmung des urethanisierten Kaninchens wurden durch Azorhodan bis 0,002 g/kg nicht beeinflußt, höhere Dosen kamen im Blutdruckversuch bisher nicht zur Anwendung. Ob die nach Einspritzung toxischer und letaler Dosen von Azorhodan (in Aceton) zunächst auftretende starke Beschleunigung der Atmung nur dem Aceton oder auch teilweise dem Azorhodan zukommt, blieb unentschieden.

Jedenfalls kann am Kaninchen als Todesursache primärer Atemstillstand angenommen werden.

Isolierte überlebende Organe des Frosches.

a) Froschherz (von Rana temporaria nach Straub). Azorhodan 1 : 20000 bewirkte bereits eine Abnahme der Hubhöhen und der Frequenz, 1 : 10000 außerdem Frequenzhalbierung, Erscheinungen, die spontan reversibel waren. Nach Azorhodan 1 : 5000 waren die starke negativ-inotrope Wirkung und die Frequenzhalbierung zwar auch spontan reversibel, die erhebliche Bradykardie verschwand dagegen erst nach Aus-

waschen mit Ringer. Unterblieb die Ringerspülung, so trat innerhalb $1^1/_2$ Stunden irreversibler Stillstand in Diastole ein.

b) Froschblutgefäße (Läwen-Trendelenburg-Präparat) von Rana esculenta: Azorhodan 1 : 25000 war wirkungslos, 1 : 20000 bedingte in geringem Ausmaß, 1 : 5000 in stärkerem Grade reversible Gefäßverengerung. Die Adrenalinwirkung wurde nicht aufgehoben, aber deutlich verzögert.

c) Froschmuskel (M. sartorius) und Froschnerv (N. ischiadicus und M. gastrocnemius) von Rana temporaria wurden durch Azorhodan 1 : 5000 innerhalb 2 Stunden nicht gelähmt. Auch bei den oben (b) aufgeführten Durchströmungsversuchen wurde durch Azorhodan 1 : 5000 die indirekte und die direkte Muskelerregbarkeit nicht beeinträchtigt.

Hämolytische und lokalanästhetische Wirkung fehlt dem Azorhodan bis zu der höchstmöglichen Konzentration von 1 : 5000. Am Kaninchenauge führte auch Einstäuben von feinstgepulvertem Azorhodan nicht zur Anaesthesie. Azorhodan beeinflußte andererseits auch nicht die lokalanästhetische Wirksamkeit (Eintritt und Dauer der Anästhesie) von 2%iger Novocainlösung am Kaninchenauge.

Zusammenfassung.

Von Azorhodan (Monorhodanid von 2, 4-Diaminoazobenzol) wurde Diffusion, Resorption und Ausscheidung geprüft, das Fehlen örtlicher Reizwirkung festgestellt, die Toxizität an verschiedenen Tierarten und die Einwirkung auf Atmung und Blutdruck sowie auf isolierte überlebende Organe untersucht.

Aus dem Pharmakognostisch-botanischen Institut der Technischen Hochschule Braunschweig.

Vergleichende Untersuchungen über Harz- und Gerbstoffgehalt sowie Wirksamkeit verschiedener Convolvulaceen.

Von

R. Jaretzky und **E. Risse.**

(Eingegangen am 10. April 1940.)

Nachdem von uns festgestellt worden war, daß Convolvulus sepium in Kraut und Wurzel nicht unbedeutende Mengen eines abführend wirkenden Harzes enthält, das sehr wohl als heimischer Ersatz für die ausländische Resina Jalapae gebraucht werden kann (1), untersuchten wir weitere 14 bisher in der Therapie nicht beachtete Convolvulaceen auf ihre Eignung als Abführmittel. Convolvulus arvensis wurde in der Umgebung von Braunschweig gesammelt, alle anderen Arten im botanischen Garten des Instituts aus Samen gezogen, welche wir von verschiedenen botanischen Gärten des In- und Auslandes erhalten hatten. Die kultivierten Pflanzen wurden im ersten Lebensjahr während der Blütezeit im August und September geerntet, im Thermostaten getrocknet und grob gepulvert. Da die Wurzeln dieser einjährigen Pflanzen schwach entwickelt waren und nur einen geringfügigen Bruchteil der Gesamtdroge ausmachten, wurden sie nicht getrennt untersucht. Unsere Angaben beziehen sich also auf das blühende Kraut samt Wurzeln. Der Ernteertrag schwankte innerhalb weiter Grenzen von 50 g Trockengewicht bei Convolvulus pentapetaloides bis 800 g Trockengewicht bei Pharbitis purpurea pro qm Bodenfläche.

Da wir aus naheliegenden und daher nicht zu erörternden Gründen annehmen konnten, daß diese Pflanzen, sofern ihnen überhaupt eine abführende Wirkung zu eigen ist, ihre Wirkung einem Harz verdanken, wurde in sämtlichen Arten der Harzgehalt nach dem gleichen Verfahren bestimmt, das uns schon bei der Untersuchung der Zaunwinde gute Dienste geleistet hatte (1). Es zeigte sich, daß alle untersuchten Arten Harz enthalten, allerdings in unterschiedlichen Mengen. Den geringsten Harzgehalt weist Convolvulus pentapetaloides mit 0,6 %, den höchsten Ipomoea sibirica mit 3 % und Convolvulus arvensis mit ebenfalls etwa 3 % auf (s. Kolumne 3 der Tabelle). Wir haben unter Berücksichtigung des Ernteertrages den Harzertrag eines qm Bodenfläche errechnet. Den niedrigsten Harzertrag pro qm ergab Convolvulus pentapetaloides, den höchsten Quamoclit hederifolia.

Tabelle 1.

Name der Pflanze oder des untersuchten Harzes	Drogenernte pro qm in g	Harzgehalt in %	Harzertrag pro qm in g	Wirksame Harzdosis pro 100 g Ratte in mg
Calystegia sepium L. (= Convolvulus sep. L.)				
Wurzel		6—7		10
Kraut		3—3,5		10
Blätter		2—2,5		10
Convolvulus arvensis L.				
Wurzel		2,5—3		10
Kraut		2—2,5		10
elongatus Willd.	200	1,5	3	10
hirsutus M. B.	160	1,3	2,08	15
pentapetaloides L.	50	0,6	0,3	
siculus L.	250	1,4	3,5	10
tricolor L.	150	1,0	1,5	15
undulatus Cav.	60	0,9	0,54	
Ipomoea sibirica Jacq.	50	3,0	1,5	8
Pharbitis				
hederacea Choisy	550	1,2	6,6	20
hispida Choisy	700	1,2	8,4	20
nivalis G. Don	550	1,2	6,6	20
purpurea (L.) Voigt (ident. m. hispida Choisy)	800	1,2	9,6	20
Quamoclit				
coccinea (L.) Moench.	500	2,3	11,5	7
hederifolia G. Don	180	1,0	1,8	15
Resina Jalapae (aus Tubera Jalapae)				5
Resina Orizabensis (aus Rad. Turpethum)				7,5
Resina Scammonium (aus Convolvulus scammonia L.)				10

Sämtliche Harze, mit Ausnahme von Convolvulus pentapetaloides und Convolvulus undulatus, die uns in allzu geringen Mengen zur Verfügung standen, als daß eine biologische Wirkungsprüfung lohnend und aussichtsreich erscheinen konnte, wurden von uns auf ihre abführenden Eigenschaften an Ratten geprüft. Es ergab sich, daß die untersuchten Harze ausnahmslos abführend wirken. In der Wirkungsstärke sind allerdings, wie die Eintragungen in der Tabelle zeigen, recht beachtliche Unterschiede (1 : 3) zu beobachten. Um die von uns erhaltenen Wirkungswerte mit den gebräuchlichen Convolvulaceen-Harzdrogen vergleichen zu können, wurden von uns auch noch die Harze der Tubera Jalapae, der Radix Turpethi (Stammpflanze Operculina turpethum) und der Radix Scammoniae (von uns aus dem eingetrockneten Milchsaft der Pflanze, dem Handelsprodukt Scammonium hergestellt) an Ratten geprüft. Wie ein Überblick über die in der Tabelle eingetragenen Wirkungswerte lehrt, kommt keines der untersuchten

Harze in der Wirkungsstärke an die Resina Jalapae heran. Einige Harze der von uns erstmalig untersuchten Convolvulaceen wirkten jedoch genau so stark oder stärker als die Harze der arzneilich verwendeten Drogen Scammonium und Radix turpethi, so daß deren arzneiliche Verwendung als Abführmittel in Betracht gezogen werden kann. In erster Linie ist an das Harz von Quamoclit coccinea zu denken, welches mit 7 mg als wirksame Dosis um ein geringes stärker wirkt als das Harz aus Radix Turpethi und um 30% stärker als das Harz aus Scammonium. Der Anbau dieser Pflanze in Deutschland zur Gewinnung eines abführend wirkenden Harzes kann auf Grund des von uns erzielten geringen Ernteertrages zur Zeit nicht empfohlen werden. Vielleicht läßt sich aber der Anbau durch geeignete Kulturmaßnahmen rentabler gestalten. Hierüber hoffen wir in einer späteren Arbeit berichten zu können. Überraschend ist die Tatsache, daß das Harz der zweiten von uns untersuchten Quamoclitart um die Hälfte schwächer wirkt als das Harz von Quamoclit coccinea und daher für eine arzneiliche Verwendung kaum in Betracht kommen dürfte. Dagegen zeichnet sich wiederum das Harz der Ipomoea sibirica durch eine starke laxierende Wirkung aus. Dieses Harz ist nahezu ebenso wirksam wie das arzneilich verwendete Harz der Radix Turpethi und um 20% wirksamer als das Harz aus Scammonium. Der Harzgehalt der krautigen Teile ist befriedigend und liegt über dem Harzgehalt aller anderen untersuchten Convolvulaceen mit Ausnahme von Convolvulus sepium und Convolvulus arvensis. Bei unseren Anzuchten war jedoch der Ernteertrag pro qm Bodenfläche so gering, daß ein Anbau zur Gewinnung des Harzes fürs erste nicht lohnend erscheint. Über Anbauversuche mit Ipomoea sibirica wird ebenfalls später berichtet werden.

Nächst den soeben besprochenen Harzen verdienen auch noch die Harze einiger anderer Convolvulaceen unsere Beachtung. Wir haben bereits in einer früheren Arbeit darauf hingewiesen, daß das Harz von Convolvulus sepium mit einer wirksamen Dosis von 10 mg die halbe Wirksamkeit der Resina Jalapae besitzt. Wir haben gleichzeitig empfohlen, das Harz der Zaunwinde als heimischen Ersatz für die mexikanische Resina Jalapae zu verwenden. Wie berechtigt diese Empfehlung war, ersehen wir aus der übereinstimmenden Wirkung des Harzes aus Convolvulus sepium und des Harzes aus dem kleinasiatischen, als Abführmittel seit dem Altertum verwendeten Scammonium. Die gleiche Wirksamkeit besitzen ferner noch die Harze von Convolvulus arvensis, elongatus und siculus. Der arzneilichen Verwendung dieser Harze steht jedoch die Schwierigkeit der Beschaffung hinreichender Drogenmengen entgegen. Ein Anbau dieser Pflanzen dürfte wegen Unrentabilität nicht in Frage kommen. Dagegen wäre es durchaus möglich, von Convolvulus arvensis, die als Unkrautpflanze in Deutschland allgemein verbreitet ist, alljährlich mindestens einige hundert Kilo zu ernten, welche zusammen mit Kraut und Wurzeln von Convolvulus sepium auf Harz verarbeitet werden könnten. Die Harze aller anderen untersuchten Con-

volvulaceen sind wegen der geringen Wirksamkeit als Ersatz für die Resina Jalapae nicht zu empfehlen.

Da bei einer eventuellen therapeutischen Verwendung einer der von uns untersuchten Convolvulaceen in Form von Pulvern oder alkoholischen Auszügen (Dekokte und Infuse sind wegen Wasserunlöslichkeit der Harze unwirksam) Gerbstoffe die abführende Wirkung des Harzes herabmindern oder gar aufheben können, die nach den Untersuchungen von Peyer (2) und Vollmer (3) in Kraut und Wurzeln von Convolvulus arvensis und Convolvulus sepium in größeren Mengen vorhanden sein sollen, wurde in sämtlichen Arten der Gehalt an Gerbstoffen bestimmt. Für Convolvulus sepium haben wir bereits in einer früheren Arbeit (1) gezeigt, daß die Pflanze in Wurzel und Kraut nicht den von Peyer und Vollmer angegebenen hohen Gerbstoffgehalt von 6—10% enthalten kann, die Gerbstoffmengen vielmehr unter 0,5% liegen müssen. Ähnliches gilt auch für Convolvulus arvensis. Zwar ergab das von Vollmer angewandte Schulte-Verfahren in der Abänderung von Diepenbrock und Peyer (4) auch bei uns einen mittleren Gerbstoffgehalt von 10% (bestimmt wurden 9,52 und 10,5%) und die Hautpulvermethode bei Prüfung wässeriger Abkochungen im Mittel 3,6% (bestimmt wurden 3,1 und 4%). Aber in beiden Fällen sind die ermittelten Werte zu hoch, weil in dem einen Falle auch zahlreiche andere, in Alkohol und Wasser lösliche, in Äther unlösliche Pflanzeninhaltsstoffe gravimetrisch bestimmt werden, in dem anderen Falle das Hautpulver auch Nichtgerbstoffe adsorbiert. Den Beweis hierfür liefern Bestimmungen des Gerbstoffs mittels Hautpulver im letzten Filtrat des Schulte-Verfahrens, dessen Trockenextrakt wir bekanntlich als Gerbstoff bestimmen. In 5 Untersuchungen mit Drogen verschiedener Herkunft erhielten wir Werte, die für einen Gerbstoffgehalt von 0,3—0,6% sprechen. Demnach können die Extraktsubstanzen im letzten Filtrat des Schulte-Verfahrens nur zu einem Bruchteil aus Gerbstoffen bestehen. Andererseits geht aus den Bestimmungen hervor, daß die wässerigen Abkochungen Pflanzensubstanzen enthalten, die, obgleich sie nicht Gerbstoffe sind, vom Hautpulver adsorbiert werden. Diese mit Hautpulver reagierenden Nichtgerbstoffe gelangen bei dem Schulte-Verfahren nicht in das letzte Filtrat hinein, zum wenigsten nicht vollständig. Da mit der Möglichkeit gerechnet werden muß, daß auch noch dieses Filtrat geringe Mengen der mit Hautpulver reagierenden Nichtgerbstoffe enthält, ist der von uns für Convolvulus arvensis ermittelte Gerbstoffgehalt eher zu hoch als zu niedrig. In Übereinstimmung mit diesen Befunden ergab die Gerbstoffbestimmung mittels ammoniakalischer Kupfersulfatlösung einen Gerbstoffgehalt von 0,3%.

Zur Durchführung dieser Gerbstoffbestimmung wurde die grobgepulverte Droge im Evakolator erschöpfend mit Methanol ausgezogen, der Auszug unter etwa 15% Wasserzugabe bis zur vollständigen Verflüchtigung des Methanols eingedunstet, so daß schließlich eine rotbraune, wässerige, die Gerbstoffe enthaltende Lösung über einer schwarzgrünen, wasserunlöslichen und gerbstofffreien Masse stand. Der im

Evakolator verbliebene Drogenrückstand wurde wiederholt mit Wasser ausgekocht, die vereinigten Auszüge eingeengt und mit Methanol versetzt, wobei Nichtgerbstoffe ausfielen. Die filtrierte methylalkoholische Lösung wurde zur Trockne eingedunstet, mit Wasser aufgenommen und erneut filtriert. Das Filtrat wurde mit dem vorher gewonnenen wasserlöslichen Anteil des methylalkoholischen Auszuges vereinigt. Die so erhaltene Flüssigkeit müßte sämtliche Gerbstoffe der Droge enthalten. Zu einer 3 g Droge entsprechenden Menge Flüssigkeit wurde ammoniakalische Kupfersulfatlösung gegeben, doch entstand lediglich eine kolloidale Trübung, die auch bei mehrtägigem Stehen nicht absetzte. Die kolloidale Kupferlösung wurde durch ein Pergamentfilter filtriert und der Filterrückstand bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Er wog 13,5 mg und enthielt 4,5 mg Kupfer. Es waren demnach 9 mg Gerbstoff mit Kupfer niedergeschlagen worden, was einem Gerbstoffgehalt von 0,3% entspricht.

Da die Grünfärbung wässeriger Auszüge durch Zusatz von Ferrisalzen die Anwesenheit von Catechingerbstoffen vermuten läßt, wurden die Catechingerbstoffe bestimmt, indem wir zu 100 ccm einer, die gesamten Gerbstoffe von 10 g Droge enthaltenden Lösung 10 g Formalin und 5 g Salzsäure gaben und eine halbe Stunde über freier Flamme kochten. Der aus Catechingerbstoffkondensaten bestehende Niederschlag wog im Mittel von 5 Versuchen 0,045 g, was einem Gerbstoffgehalt von etwa 0.5% entspricht. Da die über dem Gerbstoffkondensat stehende Flüssigkeit durch Ferrisalze nicht mehr gefärbt wurde, kann die Droge neben Catechingerbstoffen keine anderen Gerbstoffe führen. Die Abwesenheit von Tanningerbstoffen ergab des weiteren auch die bekannte Prüfung mit Schwefelammon. Einen Gerbstoffgehalt von 0,5% für Convolvulus arvensis ermittelten wir auch bei Anwendung der Blutagglutinationsmethode. Wir hielten uns hierbei an die von Jaretzky (5) angegebene Versuchsanordnung, benutzten jedoch als Vergleichslösung statt einer Tanninlösung eine genau eingestellte Catechingerbstofflösung (aus Bengalcatechu gewonnen). Das Agglutinationsvermögen von 5 mg Catechingerbstoff entsprach genau dem von 1 g Droge.

Der von uns ermittelte geringe Gerbstoffgehalt vermag die Abführwirkung der Droge nicht zu beeinträchtigen, wie aus zahlreichen von uns durchgeführten Tierversuchen geschlossen werden darf. So haben in unseren Versuchen mit 200–210 g schweren Ratten 40 mg Catechingerbstoff (aus Bengalcatechu gewonnen) die durch Milchdiät ausgelöste Diarrhöe beseitigt (keine Kotentleerung innerhalb von 5 Stunden nach Gerbstoffzufuhr), während 4 ccm eines Drogenextraktes 1 : 1 keine wesentliche Besserung brachten (Kotentleerung innerhalb 5 Stunden, teils diarrhöisch, teils weich). Des weiteren haben wir festgestellt, daß bei mit Gutti- oder Jalapenharzemulsion diarrhöisch gemachten Ratten die Darmpassagezeit eines Kontraststoffes (Bariumsulfat) durch gleichzeitige Verabfolgung von 25 mg Catechingerbstoff pro 100 g Ratte wesentlich verlängert wurde, durch 3 g eines wässerigen Auszuges 1 : 1 dagegen nicht.

Wir haben nicht alle von uns untersuchten Convolvulaceen einer solch eingehenden Gerbstoffbestimmung unterzogen wie Convolvulus arvensis

und Convolvulus sepium. Nachdem wir erkannt hatten, daß die Gerbstoff führenden Arten nur Catechingerbstoffe, aber keine Tanningerbstoffe enthalten, bestimmten wir im allgemeinen die Gerbstoffe nur durch Überführung in unlösliche Gerbstoffkondensate mittels Formalin und Salzsäure und versuchten, eine Bestätigung der ermittelten Werte im Agglutinationsversuch zu erhalten. Die Gerbstoffwerte liegen außerordentlich niedrig. In Convolvulus tricolor wurden 0,2 % ,in Ipomoea sibirica und den Quamoclitarten 0,1 %, in Convolvulus pentapetaloides, undulatus und hirsutus sogar nur Spuren Gerbstoffe festgestellt, in Convolvulus sicculus und Convolvulus elongatus sowie sämtlichen 4 Pharbitisarten war überhaupt kein Gerbstoff nachweisbar.

Literatur.

1) Jaretzky u. Risse: Arch. d. Pharmazie **278** (1940). — 2) Peyer, W.: Pharmaz. Z.halle Dtschld., S. 237. — 3) Vollmer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 550 (1939). — 4) Diepenbrock u. Peyer: Apoth. Z. **1927**, S. 86. — 5) Jaretzky, R.: Leitfaden f. d. pharmakog. Unters. im Unterr. u. in der Praxis. Herausgegeben von Wasicky. Leipzig u. Wien, Verlag Deuticke, 1936.

Druckfehlerberichtigung

zur Arbeit: Die Abhängigkeit der Acetylcholinwirkung am isolierten Meerschweinchenuterus von Konzentration und Reaktionstemperatur, von W. Laubender und B. Mertz in Naunyn-Schmiedebergs Archiv **194**, 389 (1940).

Durch Verkettung einer Reihe von widrigen Umständen wurde vorstehende Arbeit ausgedruckt, ehe die von den Autoren durchgesehene Bogenkorrektur sich in Händen der Druckerei befand. Dadurch enthält die Arbeit einige Druckfehler, von denen diejenigen, die sinnentstellend sind, nachträglich richtiggestellt werden müssen.

Auf S. 405 muß es in der Legende zu Abb. 5 statt in Prozenten der maximalen Konzentration heißen: in Prozenten der maximalen Kontraktion.

Auf S. 406 muß es in der Legende zu Abb. 7 statt Gewicht 150 g heißen: Gewicht 160 g.

Auf S. 411, Zeile 4 von oben muß es statt Hubhöhe heißen: Hubhöhen.

Auf S. 415, Zeile 15 von oben muß es statt $Q_{10} = 2 - 3$ heißen: $Q_{10} = 2$ bis 3.

Auf S. 415, Zeile 7 von unten muß es statt

$$\frac{v_2}{v_1} = e^{\frac{\mu}{2} \cdot \frac{T_2 \cdot T_1}{T_2 - T_1}} \quad \text{heißen:} \quad \frac{v_2}{v_1} = e^{\frac{\mu}{2} \cdot \frac{T_2 - T_1}{T_2 \cdot T_1}}.$$

Aus dem Pharmakologischen Institut der slowakischen Universität Bratislava (Preßburg) Slowakei. (Vorstand: Prof. Dr. Franz Švec.)

Die enterale Resorption von g-Strophanthin und ihre Beeinflußbarkeit durch Digitonin.

II. Mitteilung.

Von

Franz Švec.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 24. April 1940.)

In der I. Mitteilung[1] wurde die enterale Toxizität des g-Strophanthins behandelt. Es wurde festgestellt, daß zur Tötung der Versuchstiere vom Dünndarm aus 7 intravenöse Dosen notwendig sind. Weiter wurde gezeigt, daß in 3 Stunden 6,7, in 6 Stunden 12,6% einer Magnus-Hatcher-Dosis pro kg (in der Folge stets M.H.D./kg) resorbiert werden. Wesentlich größer ist die Resorption im untersten Teil des Dünndarms, wo sie nach 3 Stunden 31,6% beträgt.

Die Wirkung der Saponine bei der Resorption wurde in der Literatur schon öfters besprochen. Der Großteil dieser Arbeiten beweist, daß die Resorption verschiedener Arzneimittel aus dem Magendarmkanal, von der Haut, sowie aus dem Unterhautgewebe durch Saponine erhöht wird. Es wurde auch darauf hingewiesen, daß die Durchlässigkeit pflanzlicher Zellen durch Saponine gesteigert wird. Eine ausführliche Literatur über dieses Problem finden wir bei Roberg[2], Starkenstein und Hendrych[3], sowie bei Ackermann und Frey[4].

Was nun speziell die Resorption von Digitalissubstanzen vom Magendarmkanal aus betrifft, sei auf die Arbeit von Kofler und Kaurek[5] hingewiesen, in welcher die Autoren zeigen, daß die Wirkung oral zugeführten Strophanthins und Digitoxins bei Fröschen, Mäusen und Kaninchen durch gleichzeitige Verabreichung von Saponinen wesentlich gesteigert wird.

Es ist bemerkenswert, daß die verschiedenen Saponine die Resorption nicht gleichmäßig erhöhen, es gibt auch Arbeiten, die eine Herabsetzung der Resorption durch Saponine behaupten. Nyáry[6] z. B. findet, daß Digitonin im Dünndarm die Resorption des g-Strophanthins erhöht, hingegen die des Digitoxins und Digiclarins herabsetzt. Von ähnlichen Er-

[1] Švec: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 18 (1939). — [2] Roberg: Ebenda **188**, 360 (1938). — [3] Starkenstein u. Hendrych: Ebenda **182**, 664 (1936). — [4] Ackermann u. Frey: Ebenda **188**, 593 (1938). — [5] Kofler u. Kaurek: Ebenda **109**, 362 (1925). — [6] v. Nyáry: Ebenda **165**, 432 (1932).

fahrungen mit männlichen Sexualhormonen berichten Ackermann und Frey[4]. Aus ihren Versuchen geht hervor, daß die durch Erugon erzielte Gewichtszunahme der Prostata und Samenblase der kastrierten jungen Rattenmännchen durch gleichzeitige Gaben von Digitonin stark herabgesetzt wird. Die geringe Wirkung des Provirons wird durch Digitonin nicht beeinflußt. Eine fördernde Wirkung von Digitonin und Guajaksaponin wurde auf das stark wirkende Testoviron beobachtet. Wie aus dem Angeführten ersichtlich, kann man den Saponinen nicht immer eine die Resorption erhöhende Wirkung zuschreiben.

In dieser Mitteilung wollen wir die Resorption des g-Strophanthins aus dem Dünndarm bei gleichzeitiger Applikation verschiedener Mengen von Digitonin untersuchen. Es war zu beantworten, ob Digitonin a) die Resorption des g-Strophanthins erhöht, ob b) die Erhöhung der Resorption mit steigenden Dosen vom Digitonin linear zunimmt und schließlich, ob c) die durch eine bestimmte Menge von Digitonin erreichte Erhöhung der Resorption bei verschiedenen Strophanthinmengen prozentual gleichbleibt. Das g-Strophanthin wurde gewählt, weil wir vorerst seine enterale Resorption untersuchen wollten, da die Angaben über dieselbe in der Literatur nicht einheitlich sind (I. Mitteilung). Es wird dem g-Strophanthin eine zu hohe Resorptionsfähigkeit zugeschrieben. Die geringe Resorptionsfähigkeit des g-Strophanthins vom Dünndarm aus ist zugleich eine geeignete Voraussetzung für ihre Beeinflußbarkeit durch Digitonin.

Die Versuche wurden an erwachsenen Katzen durchgeführt. Wir verwendeten g-Strophanthin und Digitonin der Firma Merck und bedienten uns der in der ersten Mitteilung geschilderten Versuchsanordnung mit nur kleinen Abweichungen, die an geeigneter Stelle erwähnt werden.

Die Toxizität der Saponine ist bekanntlich geringer als die der Digitalissubstanzen, es mußte aber doch vorerst festgestellt werden, wie die Versuchstiere das Digitonin enteral unter unseren Versuchsbedingungen vertragen. Kofler[7] sagt, daß die Saponine aus dem Darmkanal nur mangelhaft resorbiert werden. Nach Hoekstra[8] liegt die tödliche Menge Saponin puriss. Merck bei der Katze höher als 42,8 mg/kg. Wir haben deshalb mehreren Versuchstieren steril per laparatomiam Digitonin in das Duodenum injiziert und zwar in Mengen von 5, 10 und 40 mg/kg. Das Digitonin wurde in 1—2 ccm verdünntem Alkohol aufgelöst und dann mittels physiologischer Kochsalzlösung auf 8—10 ccm weiter verdünnt. Mengen von 5 und 10 mg/kg Digitonin vertrugen die Tiere gut. Bei einzelnen machte sich bei der letzteren Dosis Brechreiz zwar bemerkbar, doch waren alle nach 2—3 Tagen munter. Nach 40 mg/kg erbrachen alle; bei manchen trat Durchfall ein, aber auch bei dieser Versuchsserie trat innerhalb 4—5 Tagen vollständige Erholung ein. Die Operationswunden heilten ausnahmslos per

[7] Kofler: Die Saponine. — [8] Hoekstra: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **163**, 46 (1932).

primam. Auf Grund dieser Erfahrungen überschritten wir in den folgenden Versuchen nirgends die Dosis 10 mg kg Digitonin, da diese bei keinem der Tiere toxische Schädigungen verursacht hatte. Wie bereits bemerkt, resorbieren sich Saponine im Magendarmkanal nur unbedeutend, und wenn die Versuchstiere 10 mg kg Digitonin ohne Beschwerden vertragen, darf man schließen, daß von dieser Digitoninmenge nicht so viel resorbiert wird, um die Toxizität des g-Strophanthins merkbar zu erhöhen.

In der ersten Versuchsserie wurde die Resorption 1 M.H.D./kg von g-Strophanthin im Dünndarm bei gleichzeitiger Injektion steigender Digitoninmengen nach 3 und 6 Stunden geprüft.

Die Technik war die gleiche wie in der I. Mitteilung. Die Lösungen von g-Strophanthin und Digitonin wurden gemischt in das Duodenum eingespritzt. Das Digitonin wurde in 1—2 ccm verdünntem Alkohol gelöst und mit physiologischer Kochsalzlösung auf 4 ccm ergänzt, um Konzentration des g-Strophanthins bei allen Versuchen auf der gleichen Höhe zu erhalten.

Zunächst wurden 0,5 mg/kg Digitonin verwendet. Vier Versuche ergaben, daß diese Digitoninmenge die Resorption 1 M.H.D./kg nicht wesentlich beeinflußt. Als jedoch 1,5 mg/kg gegeben wurden, resorbierten sich nach 3 Stunden 13,5 % und nach 6 Stunden 21,0 % der M.H.D./kg, also fast die doppelte Menge. Noch bedeutender ist die Wirkung von 3 mg/kg Digitonin. Nach 3 Stunden werden 31,1 % nach 6 Stunden 43,4 % resorbiert, also über ein Drittel, ja fast die Hälfte des verabreichten g-Strophanthins. Diese bedeutende Resorptionserhöhung wurde aber durch eine verhältnismäßig große Digitoninmenge erreicht. Das Verhältnis von g-Strophanthin zum Digitonin ist wie 1 : 30. In den folgenden Versuchen wurden 5 mg/kg Digitonin injiziert. Wie aus der Tabelle ersichtlich, gelangten nach 3 Stunden 9,0 %, nach 6 Stunden 27,4 % zur Resorption. Wir sehen, daß nach Verabreichung von 5 mg/kg Digitonin die Resorption des g-Strophanthins nicht mehr ansteigt, sondern sogar sinkt. In der letzten Serie untersuchten wir die Resorption des g-Strophanthins unter Zugabe von 10 mg/kg Digitonin. Nach 3 Stunden beträgt die Resorption 13,0 %, nach 6 Stunden 27,9 %. — Also nach 10 mg/kg Digitonin sinkt die Resorption nicht weiter, sondern bleibt annähernd die gleiche wie nach 5 mg/kg, ist aber doch höher als ohne Beigabe von Digitonin. Bei der Sektion der Versuchstiere wurden Veränderungen an der Schleimhaut des Dünndarms vorgefunden. Diese werden noch später Erwähnung finden.

In der I. Mitteilung wurde festgestellt, daß die Resorption des g-Strophanthins in den einzelnen Abschnitten des Dünndarms verschieden ist. Im unteren Teil des Ileums, wo weniger zerstörende Säfte vorhanden sind und besonders nach einer Ausspülung ist die Resorption des g-Strophanthins höher als im oberen Dünndarm. Sie beträgt in 3 Stunden 31,6 %, also fast fünfmal so viel wie im Duodenum. Es war deshalb von besonderem Interesse, die Wirkung des Digitonins auf diese ohnehin schon hohe Re-

Tabelle 1. Enterale Resorption des g-Strophanthins (Duodenaldosis 1 M. H. D./kg) unter Mitwirkung von Digitonin.

Versuch Nr.	Katze, Gewicht in g	Intravenöse Zusatzdosis			% des resorbierten g-Strophanthins	Mittelwert in %
		nach Stunden	mg	mg/kg		
		Digitoninmenge 1,5 mg/kg.				
1	2990	3	0,2644	0,0884	13,8	
2	3625	3	0,2998	0,0827	19,4	
3	3480	3	0,3133	0,0900	12,3	13,5
4	3180	3	0,2766	0,0869	15,2	
5	2225	3	0,2126	0,0955	6,9	
6	2700	6	0,1752	0,0648	22,9	
7	2290	6	0,1720	0,0689	26,8	21,0
8	3820	6	0,3153	0,0180	19,6	
9	3260	6	0,2853	0,0055	14,7	
		Digitoninmenge 3,0 mg/kg.				
10	2345	3	0,1386	0,0591	42,3	
11	3300	3	0,2343	0,0710	30,8	
12	2760	3	0,2236	0,0810	20,0	31,1
13	2790	3	0,2286	0,0819	20,1	
14	1870	3	0,1107	0,0591	42,3	
15	3040	6	0,1740	0,0572	44,3	
16	2120	6	0,1266	0,0597	41,8	43,4
17	2365	6	0,1320	0,0558	45,6	
18	3180	6	0,1893	0,0595	42,0	
		Digitoninmenge 5,0 mg/kg.				
19	3005	3	0,2813	0,0936	8,8	
20	4210	3	0,4220	0,1000	2,4	9,0
21	3125	3	0,2780	0,0889	13,4	
22	2280	3	0,2066	0,0906	11,7	
23	3055	6	0,2373	0,0776	24,3	
24	2800	6	0,1933	0,0693	32,7	27,4
25	3355	6	0,2586	0,0770	24,9	
26	3210	6	0,2380	0,0741	27,8	
		Digitoninmenge 10 mg/kg.				
27	2245	3	0,2653	0,0947	7,7	
28	2940	3	0,2554	0,0868	15,4	13,0
29	2450	3	0,2055	0,0838	18,3	
30	3160	3	0,2898	0,0917	10,7	
31	2940	6	0,2206	0,0750	26,9	
32	1920	6	0,1446	0,0753	26,6	27,9
33	3720	6	0,2833	0,0761	25,8	
34	2855	6	0,2053	0,0694	32,3	

sorption zu prüfen. Wir verwendeten Digitonin in Mengen von 1,5 und 3,0 mg/kg.

In einigen Versuchen wurde der Ileumabschnitt mit physiol. Kochsalzlösung durchgespült, bei anderen ohne Durchspülung das g-Strophanthin zusammen mit Digitonin etwa 20 cm oberhalb des Dickdarms injiziert. Über die Technik dieser Versuche siehe S. 24 der I. Mitteilung.

Tabelle 2. Die Resorption des g-Strophanthins im unteren Teile des Dünndarms (Dosis 1 M. H. D./kg) unter Mitwirkung von Digitonin.

Versuch Nr.	Katze, Gewicht in g	Darm-ausspülung	Intravenöse Zusatzdosis			% des resorbierten g-Strophanthins	Mittelwert in %
			nach Stunden	mg	mg/kg		
			Digitoninmenge 1,5 mg/kg.				
1	3630	mit	1,5	0,2033	0,0560	45,5	38,3
2	2910	mit	1,5	0,2086	0,0716	30,2	
3	2330	mit	1,5	0,1455	0,0624	39,2	
4	2910	ohne	1,5	0,2053	0,0705	31,3	40,4
5	2590	ohne	1,5	0,1293	0,0499	49,5	
			Digitoninmenge 3,0 mg/kg.				
6	2720	mit	3	0,1413	0,0519	49,4	54,5
7	3160	mit	3	0,1133	0,0358	65,1	
8	1770	mit	3	0,0800	0,0452	57,0	
9	3660	mit	3	0,2000	0,0546	46,8	
10	3550	ohne	3	0,2113	0,0595	42,0	40,6
11	2640	ohne	3	0,1613	0,0610	40,5	

Die Resorption im untersten Dünndarm wird durch Digitoninbeigabe noch weiter erhöht. Nach 1,5 mg/kg Digitonin steigt die Resorption auf 38,4 %, nach 3,0 mg/kg sogar auf 54,5 %. Dies ist die maximale Resorption des g-Strophanthins, die aus 1 M.H.D./kg vom Dünndarm aus erreicht wurde. Sie ist etwa achtmal so hoch wie die Resorption des g-Strophanthins im oberen Dünndarm ohne Digitonin.

Zwei Versuche mit 1,5 mg/kg Digitonin ohne Durchspülung haben gleiche Resorption gezeitigt, wie die Versuche nach Durchspülung. Bei 3 mg/kg Digitonin ließen zwei Versuche ohne Durchspülung eine geringere Resorption erkennen, nämlich durchschnittlich 40,6 %. Bei beiden Versuchstieren wurde im betreffenden Darmabschnitt viel eingedickte Galle gefunden.

In weiteren Versuchen wurde die enterale Toxizität (enteral tödliche Dosis) des g-Strophanthins unter Beigabe derselben Mengen von Digitonin wie bei den vorigen Versuchen geprüft. Die Methode ist auf S. 21 der I. Mitteilung angegeben. Zur g-Strophanthinlösung wurde das Digitonin mit jeweils 4 ccm Flüssigkeit beigemischt. Die enterale Toxizität wurde jedoch nicht statistisch auf die Bestimmung der Dosis, die 50 % Sterblichkeit aufweist, abgestimmt, sondern es war uns daran gelegen, die geringste Anzahl ganzer M.H.D./kg festzustellen, die zur Tötung der Versuchstiere führen. Es wurden so viele Versuche angestellt (mindestens 4—5), daß sie eine Mortalität von mehr als 70 % zur Folge hatten. Folgerichtig überlebten dann mehr wie 70 % der Tiere eine um 1 ganze M.H.D./kg kleinere g-Strophanthinmenge.

Tabelle 3. Enterale Toxizität des g-Strophanthins unter Mitwirkung von Digitonin.

Versuch Nr.	Katze, Gewicht in g	Magnus-Hatcher-Dosen	Erscheinungen, Befund im Dünndarm (D.)	Tot bzw. lebend nach	Tot in %, überlebend in %
			Digitoninmenge 0,5 mg/kg.		
1	2870	6	plötzlicher Tod, D. leer, ohne Befund	† 1 Std. 14 Min.	
2	3165	6	plötzlicher Tod, D. lichte Galle, ohne Befund	† 1 Std.	
3	2640	6	plötzlicher Tod, D. ohne Befund	† 1 Std. 30 Min.	
4	1920	6	starke Abmagerung, erbricht mehrmals nach 2 Std.	† 4 Tagen	71,4
5	2560	6	plötzlicher Tod, D. ohne Befund	† 1 Std. 10 Min.	
6	2630	6	langsame Erholung	* 5 Tagen	
7	2570	6	langsame Erholung	* 4 Tagen	
8	1785	5	plötzlicher Tod, D. ohne Befund	† 1 Std. 15 Min.	
9	3290	5	Brechreiz nach 4 Std., starke Abmagerung	* 5 Tagen	
10	1860	5	starke Abmagerung	* 6 Tagen	
11	3410	5	Brechreiz nach 3 Std., langsame Erholung	* 4 Tagen	80
12	2570	5	Brechreiz nach 3 Std., langsame Erholung	* 4 Tagen	
			Digitoninmenge 1,5 mg/kg.		
13	3090	6	plötzlicher Tod, D. leer ohne Befund	† 1 Std. 10 Min.	
14	2600	6	erbrochen, im D. etwas lichte Galle	† 3 Std.	100
15	3210	6	D. leer, leicht gerötet	† 2 Std. 15 Min.	
16	3330	5	plötzlicher Tod, D. ohne Befund, etwas lichte Galle	† 30 Min.	
17	2780	5	Krämpfe, D. leicht gerötet	† 48 Min.	
18	2830	5	D. leer, leicht gerötet	† 1 Std. 45 Min.	80,0
19	1900	5	D. leer, leicht gerötet	† 1 Std. 20 Min.	
20	2850	5	Brechreiz, stark abgemagert	* 6 Tagen	
21	2930	4	Brechreiz, Krämpfe, D. ohne Befund	† 1 Std. 30 Min.	
22	1920	4	mehrmals erbrochen, D. leer, ohne Befund	† 2 Tagen	100
23	1940	4	D. leer, ohne Befund	† 2 Std.	
24	2340	4	D. leer, ohne Befund	† 1 Std. 25 Min.	
25	2755	3	Speichelfluß, Brechreiz, stark abgemagert	* 5 Tagen	
26	3145	3	kein Brechreiz, rasche Erholung	* 5 Tagen	
27	2335	3	rasche Erholung	* 4 Tagen	100
28	3590	3	rasche Erholung	* 4 Tagen	
29	2145	3	rasche Erholung	* 4 Tagen	
			Digitoninmenge 3,0 mg/kg.		
30	2465	5	plötzlicher Tod, D. hyperämisch	† 1 Std.	
31	3390	5	plötzlicher Tod, D. hyperämisch	† 1 Std.	
32	3600	5	Krämpfe, Speichelfluß, Brechreiz, D. hyperämisch	† 24 Std.	100
33	2700	5	D. etwas Galle, hyperämisch	† 1 Std.	
34	2875	5	D. lichte Galle, ohne Befund	† 1 Std.	

Tabelle 3 (Fortsetzung).

Versuch Nr.	Katze, Gewicht in g	Magnus-Hatcher-Dosen	Erscheinungen, Befund im Dünndarm (D.)	Tot bzw. lebend nach	Tot in %, überlebend in %
35	3740	4	D. leer, ohne Befund	† 2 Std.	
36	2720	4	D. leer, ohne Befund	† 1 Std.	
37	2030	4	D. leer, mäßig hyperämisch	† 1 Std. 50 Min.	
38	2040	4	dysponisch, ständig rascher Puls, D. ohne Befund	† 32 Std.	83,3
39	1880	4	plötzlicher Tod. D. ohne Befund	† 1 Std.	
40	3315	4	4 Tage Speichelfluß, starke Abmagerung	* 6 Tagen	
41	2495	3	D. leer, ohne Befund	† 1 Std.	
42	2795	3	D. hyperämisch	† 1 Std.	
43	2480	3	plötzlicher Tod, D. ohne Befund	† 1 Std.	
44	1935	3	Brechreiz, Krämpfe, D. ohne Befund	† 5 Std.	80,0
45	2870	3	stark abgemagert, langsame Erholung	* 6 Tagen	
46	2340	2	Speichelfluß, rasche Erholung	* 4 Tagen	
47	3150	2	Brechanfälle, rasche Erholung	* 4 Tagen	
48	2645	2	lebhaft, kein Erbrechen, rasche Erholung	* 4 Tagen	100
49	2920	1	rasche Erholung	* 2 Tagen	
50	1985	1	rasche Erholung	* 3 Tagen	
			Digitoninmenge 5,0 mg/kg.		
51	2815	5	plötzlicher Tod, D. stark hyperämisch, geschwollen	† 1 Std.	100
52	2695	5	plötzlicher Tod, D. stark hyperämisch, geschwollen	† 55 Min.	
53	2780	4	plötzlicher Tod, D. stark hyperämisch, geschwollen	† 1 Std. 10 Min.	
54	3770	4	plötzlicher Tod, D. leicht gerötet	† 50 Min.	
55	2330	4	plötzlicher Tod, D. leicht gerötet	† 1 Std. 10 Min.	
56	3370	4	plötzlicher Tod, D. stark hyperämisch, geschwollen	† 30 Min.	71,4
57	2665	4	plötzlicher Tod, D. leer, stark hyperämisch	† 1 Std.	
58	1885	4	stark abgemagert, kein Erbrechen	* 5 Tagen	
59	3230	4	Brechreiz, stark abgemagert, schwere Erholung	* 5 Tagen	
60	2865	3	Brechreiz, Krämpfe, D. leer, hyperämisch	† 48 Std.	
61	2860	3	rasche Erholung	* 4 Tagen	
62	2470	3	rasche Erholung	* 4 Tagen	83,3
63	2850	3	rasche Erholung	* 4 Tagen	
64	2250	3	rasche Erholung	* 4 Tagen	
65	2400	3	rasche Erholung	* 4 Tagen	
			Digitoninmenge 10 mg/kg.		
66	3160	5	plötzlicher Tod, D. leer, hyperämisch	† 1 Std. 30 Min.	100
67	2435	5	plötzlicher Tod, D. stark hyperämisch, geschwollen	† 30 Min.	

Tabelle 3 (Fortsetzung).

Versuch Nr.	Katze, Gewicht in g	Magnus-Hatcher-Dosen	Erscheinungen, Befund im Dünndarm (D.)	Tot bzw. lebend nach	Tot in %, überlebend in %
68	1850	5	plötzlicher Tod, D. stark hyperämisch, geschwollen	† 1 Std.	100
69	2900	5	plötzlicher Tod, D. etwas lichte Galle, hyperämisch	† 1 Std. 10 Min.	
70	3530	4	plötzlicher Tod, D. stark gerötet, geschwollen	† 35 Min.	77,8
71	3060	4	plötzlicher Tod, D. leer, hyperämisch	† 45 Min.	
72	3895	4	Brechreiz, Speichelfluß, stark abgemagert	* 6 Tagen	
73	2680	4	Erbrochen, Speichelfluß, langsame Erholung	* 6 Tagen	
74	2310	4	stark abgemagert, langsame Erholung	* 7 Tagen	
75	2250	4	Brechreiz, Speichelfluß, starke Abmagerung	* 5 Tagen	
76	1940	4	lebhaft, kein Brechreiz	* 5 Tagen	
77	3360	4	rasche Erholung	* 6 Tagen	
78	1985	4	rasche Erholung	* 4 Tagen	

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß bei 0.5 mg kg Digitonin eine 5fache M.H.D./kg nicht tödlich wirkt, wohl aber eine 6fache M.H.D. kg. Bei Vergleich dieser Toxizität des g-Strophanthins mit jener ohne Digitoninbeigabe (7 M.H.D./kg) stellen wir fest, daß sich die enterale Toxizität um 1 M.H.D./kg erhöht hat.

Bei Injektion von 1,5 mg/kg Digitonin überlebten die 3fache M.H.D. kg alle Tiere, die 4fache M.H.D./kg wirkte in allen Fällen tödlich. Durch die erhöhte Resorption wurde die Toxizität um 3 M.H.D. kg gesteigert. Bei der Sektion der Versuchstiere wurde bei einzelnen, wie die Tabelle zeigt, eine Hyperämie der Schleimhaut des Dünndarms gefunden, gewöhnlich 1—2 cm unterhalb des Einstiches in einer Länge von 10—20 cm. Nach 3 mg/kg Digitonin erreicht die Resorption des g-Strophanthins ihren Höhepunkt, so daß die tödliche Menge des g-Strophanthins auf 3 M.H.D./kg ansteigt. Bei Untersuchung des Dünndarms wurde in einigen Fällen die schon erwähnte Hyperämie gefunden.

Die Beigabe von 5 mg/kg Digitonin erhöht die Resorption des g-Strophanthins nicht mehr weiter; im Gegenteil: 5 mg/kg Digitonin haben nur die gleiche Erhöhung der Resorption zur Folge wie 1,5 mg/kg, d. h. die 4fache M.H.D./kg des g-Strophanthins wirkt tödlich. Bei der Sektion fanden sich in allen Fällen Veränderungen an der Schleimhaut des Dünndarms. Wie die Tabelle zeigt, wurde nur bei zwei Katzen eine mäßige Hyperämie vorgefunden. In der Mehrzahl der Fälle ergaben sich tiefergreifende Veränderungen. In der Nähe des Einstiches und kaudalwärts war die Schleimhaut in der Länge von ungefähr 20 cm stark hyperämisch,

entweder im ganzen oder an vielen scharf begrenzten Stellen. Die Schleimhaut war dabei stark geschwollen. Schließlich wurden noch Versuche mit 10 mg kg Digitonin durchgeführt. Laut Tabelle war die 5fache M.H.D. kg stets tödlich, hingegen überlebten die Tiere eine 4fache M.H.D./kg in 78% der Fälle. Aus diesen Versuchen ergibt sich eine noch kleinere Resorptionserhöhung, wie nach 5 mg kg Digitonin. An der Darmschleimhaut wurden die gleichen Veränderungen beobachtet wie in den vorhergehenden Versuchen.

Es ist auffallend, daß in allen Versuchsserien die Tiere in kurzer Zeit, meistens binnen 1 Stunde starben. Dies läßt vermuten, daß die Resorption des g-Strophanthins in dieser Zeit schon vollendet gewesen ist.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Alle Versuche ergaben übereinstimmend, daß Digitoninzusatz die Resorption von g-Strophanthin erhöht. Wir bringen unsere Ergebnisse in Diagrammen. Die Abb. 1 zeigt, daß die Toxizität des Strophanthins nicht einfach linear mit der Digitoninmenge ansteigt, sondern daß anfänglich kleinen Dosierungsunterschieden starke Wirkungsdifferenzen folgen. Die enterale Toxizität erreicht nach 3 mg/kg Digitonin ihren Höhepunkt. Bei dieser Menge genügen zur enteralen Tötung der Versuchstiere 3 M.H.D./kg g-Strophanthin. Daraus geht hervor, daß zur Erreichung einer so bedeutenden Resorption des g-Strophanthins eine verhältnismäßig große Menge von Saponin benötigt wird. Das Mengenverhältnis zwischen g-Strophanthin und Digitonin beträgt 1 : 10. Bei 5 mg/kg Digitonin fällt die Resorption und nimmt die Toxizität ab. Bei 10 mg/kg erfolgt noch eine weitere Abnahme der Resorption, wobei diese aber immerhin noch höher bleibt als ohne Digitoninbeigabe.

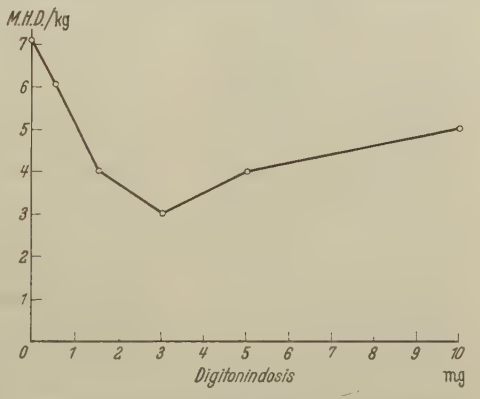


Abb. 1. Die enterale Toxizität des g-Strophanthins unter Mitwirkung von Digitonin.

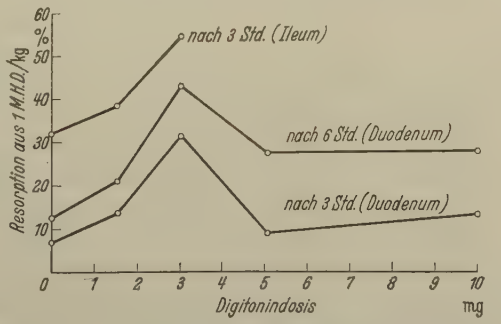


Abb. 2. Die enterale Resorption des g-Strophanthins unter Mitwirkung von Digitonin.

Es ist bemerkenswert, daß die perzentuelle Resorption des g-Strophanthins aus 1 M.H.D./kg vom Dünndarm aus durch Digitonin in derselben Weise beeinflußt wird. Wie Abb. 2 zeigt, erreichten wir die größte Resorption von 1 M.H.D./kg g-Strophanthin durch Digitonin im kaudalen Teil des Ileums. An dieser Stelle ist die Resorption auch ohne Zugabe von Digitonin schon groß. Sie beträgt unter Digitoninwirkung den achtfachen Wert des im kranialen Teil des Dünndarms ohne Mitwirkung von Digitonin erreichten. Wir stellten außerdem fest, daß durch 3 mg/kg Digitonin sowohl aus mehreren als auch aus 1 M.H.D./kg die höchste Resorption bewirkt wird.

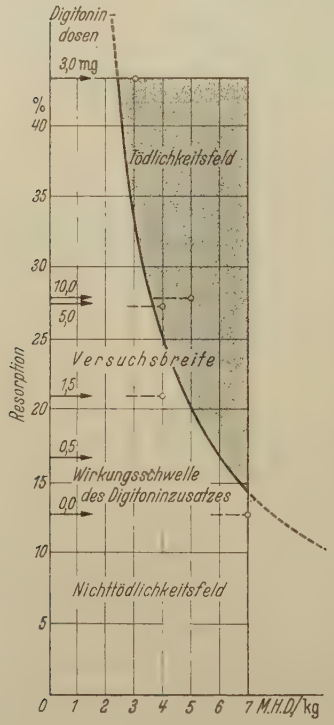


Abb. 3.

Die Eigenschaft der Saponine, die Resorption zu erhöhen, wurde in der Literatur bereits behandelt. Es ist allgemein bekannt, daß das Digitonin mit einigen Sterinen Verbindungen eingeht. 1 Mol Digitonin z. B. und 1 Mol Cholesterin ergeben 1 Mol unlöslichen Digitonincholesterids. Durch diese Verbindung wird das Gleichgewicht des Cholesterin-Lecithins der Zellenmembran gestört. Das Eingreifen in das Cholesterin-Lecithingerüst hat eine solche Permeabilitätsstörung zur Folge, daß sie eine Erhöhung der Permeabilität und damit eine bessere Vorbedingung für eine rasche und lebhafte Resorption hervorruft. Unsere Versuche haben bewiesen, daß die Resorptionserhöhung im Dünndarm weitgehend von der jeweiligen Dosis des verabreichten Digitonins abhängig ist. Wir haben aber auch gesehen, daß unter der Wirkung bestimmter Digitoninmengen sichtbare Veränderungen an der Schleimhaut des Dünndarms auftreten. Diese Veränderungen sind am deutlichsten nach jenen Digitoninmengen, bei denen die höchste Resorption des g-Strophanthins bereits überschritten war. Diese Beobachtung läßt darauf schließen, daß es sich bei größeren Digitoninmengen nicht nur um eine Veränderung im Gleichgewicht des Cholesterin-Lecithins handelt, sondern um tiefere, wahrscheinlich anatomische Veränderungen, bei denen die Schleimhaut nicht mehr die optimale Permeabilität besitzt.

Eine Zusammenfassung unserer Versuchsergebnisse bringt die Abb. 3. Dies fußt auf der Voraussetzung, daß bei enteraler Verabreichung die Resorption einer M.H.D./kg g-Strophanthins notwendig ist, um die Tötung des Versuchstieres herbeizuführen. Unsere Versuchsergebnisse scheinen diese Annahme um so eher zu bestätigen, als aus der Literatur bekannt ist,

daß die letale Strophanthinmenge bei zeitlich begrenzter (intravenöse Infusion) und nicht begrenzter Wirkungsdauer (intravenöse Injektion) annähernd dieselbe ist (Rothlin[9], Švec[1] usw.). Die Kurve in der Figur teilt das Feld in zwei Teile, von denen der rechte das Tödlichkeitsfeld, das linke das Nicht-Tödlichkeitsfeld bedeutet. Auf der Abszisse ist die Zahl der Magnus-Hatcher-Dosen/kg verzeichnet, auf der Ordinate die Prozente der durch die Digitoninwirkung bedingten Resorption. Zwischen diesen Prozentzahlen befinden sich an der entsprechenden Stelle die verabreichten Digitoninmengen in mg. Das heißt, an der Stelle, wo sich z. B. die Zahl 1,5 mg/kg vorfindet, beträgt die Resorption 21% des verabreichten g-Strophanthins. Dasselbe gilt für die andere Angabe über die verabreichten Digitoninmengen. Wir sehen, daß die Verteilung der Digitonindosen nicht proportional den angezeichneten Prozenten erfolgt, sondern daß der Abstand mit zunehmender Menge bis zu einem Maximum von 3 mg/kg steigt. Diese Menge finden wir bei 43,3% verzeichnet. Das bedeutet, daß der Zusatz von 3 mg/kg Digitonin so zur einfachen als auch zur mehrfachen M.H.D./kg die höchste Resorption der jeweils zugeführten in Hatcher-Dosen ausgedrückten g-Strophanthinmenge zur Folge hat. Die Figur zeigt ferner, daß eine weitere Erhöhung der Digitoninzufuhr eine Senkung der Wirkung zur Folge hat. Wo die Parallele zur Abszisse durch den entsprechenden Ordinatenpunkt die Hyperbel schneidet, hat die Resorption die tödliche g-Strophanthinmenge, also 1 M.H.D./kg erreicht. Infolge des Umstandes, daß die tödliche M.H.D./kg von der Einverleibung des g-Strophanthins in weitem Maße unabhängig ist, nimmt die Tödlichkeitskurve die Form einer Hyperbel an. Selbstredend können die Versuchswerte mit den theoretischen Hyperbelwerten nicht genauer übereinstimmen, als es dem Charakter biologischer Versuchsergebnisse und den damit verbundenen Fehlerquellen entspricht. Unter dieser Voraussetzung kann man die Übereinstimmung im Gebiete der möglichen Versuchsbreite als ziemlich gelungen ansehen. Wenn wir mit p Prozentsatz der resorbierten wirksamen Strophanthinmenge und mit d die einverleibte g-Strophanthinmenge, ausgedrückt in Hatcher-Dosen, bezeichnen, so stehen diese zueinander im Verhältnis reziproker Prozentzahlen $p = 1/d \cdot 100$.

Wir beantworten die eingangs gestellten Fragen wie folgt:

a) Die Resorption von g-Strophanthin wird durch Digitoninzusatz erhöht.

b) Die Erhöhung erfolgt nicht linear proportional, sondern in einer Kurve, deren Maximum bei 3,0 mg/kg Digitoninzusatz liegt.

c) Die prozentuale Zunahme der Resorption ist wesentlich von der Höhe der gleichzeitigen Digitoningabe bedingt und für verschiedene Dosen des g-Strophanthins annähernd konstant.

---

[9] Rothlin: Helvet. med. Acta **1**, 460 (1934).

Schlußfolgerung.

Es wurde bestätigt, daß Digitonin die Resorption des g-Strophanthins aus dem Darmtrakt erhöht.

Wir haben nachgewiesen, daß die Erhöhung der Resorption nicht linear mit den steigenden Dosen von Digitonin erfolgt.

Aus den aufgewendeten Digitoninmengen (0,5, 1,5, 3,0, 5,0 und 10,0 mg/kg des g-Strophanthins wurde die höchste Resorption aus einer Magnus-Hatcher-Dosis pro kg nach 3 mg/kg Digitonin erreicht. Das Verhältnis von g-Strophanthin zu Digitonin war hierbei wie 1 : 30. Nach 5,0 und 10,0 mg/kg Digitonin sinkt die Resorption.

Aus dem unteren ausgespülten Dünndarmabschnitt ist die Resorption aus 1 M.H.D./kg des g-Strophanthins bei gleichzeitiger Verabreichung von 3 mg/kg Digitonin fast achtmal so groß wie die Resorption vom Duodenum aus ohne Beigabe von Digitonin.

Das Digitonin beeinflußt die enterale Toxizität des g-Strophanthins (enterale tödliche Dosis) ähnlich. Die höchste Resorption wurde ebenfalls nach 3 mg/kg Digitonin festgestellt.

Die durch eine bestimmte Menge von Digitonin erreichte Erhöhung der Resorption bleibt bei verschiedenen Mengen von g-Strophanthin prozentual konstant.

Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. Eichler.)

Untersuchungen über den Histamingehalt des Blutes bei Infusion von Adrenalin und Histamin.

Überlegungen nach dem Le Chatelierschen Prinzip.

Von

Oskar Eichler und **Franz Barfuß.**

(Eingegangen am 19. Mai 1940.)

Der Ausgangspunkt dieser Untersuchung waren Gleichgewichtsbetrachtungen, wie sie aus dem Prinzip nach Le Chatelier folgen[1], dessen Sinn im Rahmen der Biologie sich gerade hier deutlich machen und umschreiben läßt. Im Bereich des Anorganischen lautet es so: „Wenn einem physikalisch-chemischen System, das sich im Gleichgewicht befindet, von außen eine Veränderung in einer bestimmten Richtung aufgezwungen wird, dann entstehen innerhalb des Systems Kräfte, die der verändernden Kraft entgegenwirken, d. h. sie zu verkleinern trachten." Durch diese Formulierung wird einem der Grundelemente der Wissenschaft genügt, der Ökonomie. Es werden zwei verschiedene Vorgänge in Beziehung gebracht, z. B. bei der Lösung eines Salzes: Abkühlung dann, wenn diese die Löslichkeit des Salzes erniedrigt. In größerem Rahmen werden die Vorgänge begriffen durch die weitgespannten Lehrsätze der Thermodynamik, hier den zweiten Hauptsatz.

So weit können wir im Bereich des Lebendigen nicht gehen, sondern unsere Darstellung muß vorläufig an der Oberfläche bleiben, d. h. sich mit dem ersten Schritt, der Induktion entgegengesetzter Vorgänge, begnügen. Aber hierbei handelt es sich doch um eine ökonomische Beschreibung, indem zwei verschiedene Vorgänge in logische Beziehung gebracht, d. h. verknüpft werden. Für die Erkenntnis über das Zusammenspiel im Organismus bedeutet es viel, wenn wir den Zusammenhang solcher „Klammern" in verschiedenen anatomischen Bezirken dartun können. Dabei sind natürlich Möglichkeiten falscher oder, noch schlimmer, rein dialektischer Auslegung vorhanden.

Nun wird man nach dem Unterschied zwischen unserer Formulierung und dem Begriff der Gegenregulation fragen. Wir sehen zwei fundamentale Unterschiede:

1. Der Begriff der Gegenregulation enthält das Moment der Zweckmäßigkeit, der Teleologie, die Ganzheit, d. h. als Inhalt ein moralisches

[1] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 82 (1936).

Werturteil. Der Zweck setzt ein Wollen voraus. Das Wort Gegenregulation benutzen wir trotzdem häufig der Bequemlichkeit halber, müssen dabei aber an die vorliegende Ungenauigkeit denken und ihm immer unseren Sinn unterlegen.

2. Durch Beseitigung des Zweckbegriffes haben wir die Möglichkeit, auch „unzweckmäßige" Folgen solcher „Gegenregulationen" zu beachten, und diese ergeben sich aus der Inkongruenz von Actio und Reactio[2].

Zur Illustration können wir hier unser Thema, das Adrenalin, wählen. Es ist bekannt, daß eine lokale Anwendung von Adrenalin zur Anaemie des Gewebes führt, bedingt durch Verengerung der Gefäße. Dieser folgt dann eine Phase der Hyperämie unbekannten Ursprungs. Nach dem Le Chatelierschen Prinzip werden wir den Verlauf so darstellen: Die in der zweiten Phase vorkommende Hyperämie wird durch Vorgänge in Gang gebracht, die schon von der ersten Einwirkung des Adrenalins ab wirksam werden, aber durch die übermäßige Adrenalinwirkung solange überdeckt werden, bis sie selbst an Stärke zugenommen haben oder Adrenalin an Konzentration und Wirkungsintensität abgenommen hat. Da der Prozeß A (Actio) (hier Adrenalinwirkung) niemals gleich rasch verschwinden wird wie der Prozeß R (= Reactio), wird eine zweiphasische Wirkung resultieren, da es sich um die Addition zweier Wirkungen handelt. Diese Inkongruenz kann, wird aber nicht immer zweckmäßig sein. Durch diese unterscheidet sich der Vorgang von dem im nichtlebenden Milieu, wo durch starke Dämpfung der Prozeß aperiodisch verläuft, wenn man nicht auf Trägheit der Materie beruhende Schwingungen schon dazu rechnet. Eine Ausnahme wird vielleicht auch in schwieriger strukturierten Gebilden vorliegen können, die eine Hysteresis zeigen, wie z. B. in elastischen Körpern.

Beim Adrenalin, als Objekt unserer Untersuchung, dachten wir an Histamin als entgegenwirkenden Stoff, weil wir bei der Histaminwirkung sowohl die antagonistische Wirkung am Blutdruck, als auch sogar spezieller an den Gefäßen haben. Darauf wies auch eine merkwürdige Reaktion des Ephedrins hin, die nach wiederholten Gaben auftritt und die als Umschlag[3] bezeichnet wurde. Da nach Holtz[4] Histamin durch Redoxsysteme aus Histidin entstehen kann, war ein weiterer Hinweis gegeben. Dabei ergab sich als erste Frage: Wird durch Adrenalingaben Histamin frei?

Methodik.

Als Methodik war uns die auf den Befunden von Barsoum und Gaddum[5] beruhende Methode von Code[6] gegeben. Erst nach dieser Methode angestellte Versuche über Histamingehalt des Plasmas erscheinen überhaupt brauchbar. Ein Nachteil dieser Methode für unsere Fragestellung

[2] Vollmer, H., u. G. Richter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 573 (1940); hier auch eine Darstellung in anderer Weise. — [3] Eichler, O.: Ebenda **187**, 429 (1937). — [4] Holtz, P.: Ebenda **187**, 589 (1937). — [5] Barsoum, G. S., u. J. H. Gaddum: J. Physiol. (Brit.) **85**, 1 (1935). — [6] Code, C. F.: Ebenda **89**, 257 (1937).

wurde aber während unserer Versuche deutlich, nämlich die großen Mengen von Blut (10 ccm), die für den Arbeitsgang notwendig sind. Diese Blutmengen sind aber beim Arbeiten mit so kleinen Versuchstieren wie der Katze nicht tragbar, ohne unabsehbare Störungen zu erhalten.

Deshalb ging unser Streben dahin, die Methodik so umzuarbeiten, daß auch kleinere Mengen (2 ccm) ausreichen konnten. - Weiterhin ergab sich aus den Befunden von Code[7] die Notwendigkeit, nur leukocytenfreies Plasma zu untersuchen. Obwohl über den Verbleib der Leukocyten beim Zentrifugieren von Code selbst das Blut zahlreicher Laboratoriumstiere untersucht wurde, fehlten solche Versuche an Katzen, die wir aus verschiedenen Gründen für unsere Versuche gewählt hatten. Dieses war daher die erste Vorarbeit. Wir gingen so vor, daß Schritt für Schritt die einzelnen Schichten von Katzenblut nach kurzem Zentrifugieren auf Objektträger ausgestrichen und nach üblichen Methoden gefärbt wurden. Es zeigte sich, daß die Leukocyten eine ziemlich scharfe Schicht zwischen überstehendem Plasma des heparinisierten Blutes und der Erythrocytenschicht einnehmen. Einzelne Leukocyten sind noch in tieferen Schichten der Erythrocyten vorhanden, nicht aber in dem darüberstehenden Plasma. Trotzdem wurde eine kleine Schicht von Plasma nach dem Zentrifugieren nicht zur Weiterverarbeitung verwandt, sondern verworfen, um auch Aufwirbeln zu vermeiden. Da wir mit 1 ccm Plasma arbeiteten, mußten gegen $2^1/_2$ ccm Blut entnommen und mit einem Körnchen Heparin* versetzt werden. Sofort wird in kleinen hohen** Zentrifugengläsern zentrifugiert, das Serum abgehoben. Durch den kleinen Querschnitt brauchte man nicht viel Plasma zu verwerfen. Die Weiterverarbeitung konnte streng nach Codes Vorschriften geschehen, nur mit kleinen Reagensmengen, die im Verhältnis 1 : 10 verringert waren. Also: 1 ccm Plasma wird mit 1,5 ccm 10%iger Trichloressigsäure enteiweißt, die Fällung aber auch in den schmalen Reagensgläsern abzentrifugiert. Der Niederschlag nochmals mit 1 ccm Trichloressigsäure aufgerührt und nach abermaligem Zentrifugieren zur ersten Portion eventuell nach Filtration hinzugefügt. Die Anwendung von Trichloressigsäure war für unsere Adrenalinversuche besonders günstig, weil nach anderen chemischen Versuchen[8] die Zersetzung von Adrenalin durch Trichloressigsäure beschleunigt wird.

Das Abrauchen der Trichloressigsäure am Rückflußkühler mit HCl — dem gesamten Filtrat wird 1 ccm konz. HCl zugesetzt und das ganze $1^1/_2$ Stunden gekocht — muß auch in kleinen Gefäßen vorgenommen werden. Damit kein Verlust durch Spritzen auftritt, wird der Ansatz am

[7] Code, C. F.: J. Physiol. (Brit.) **90**, 349 (1937). — [8] Eichler, O., u. C. Noack: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 503 (1939).

* Das Heparin (Vetren) verdanken wir dem Entgegenkommen der Firma Promonta.

** Die Zentrifugenröhrchen waren 100 mm hoch und faßten bis oben 3 ccm. Die lichte Weite oben betrug 8 mm.

Rückflußkühler abgebogen mit Schrägstellen des kleinen 30-ccm-Kölbchens. Durch das Abbiegen ist es zugleich möglich, eine ganze Batterie von Analysen auf einem Sandbad im Kranz anzuordnen und gleichzeitig zu verarbeiten.

Die überschüssige Säure wird beseitigt durch Einengen der Flüssigkeitsmenge auf wenige ccm und dreimaligem Abrauchen mit 5 ccm 96%igem Alkohol, danach Eindampfen bis zur Trockne. Das Abrauchen und Eindampfen geschieht im Wasserbad bei 80° C in vacuo. Der Trockenrückstand wird mit 1 ccm aqua dest. aufgenommen und in einen schmalen kalibrierten Zylinder filtriert. Dreimaliges Nachspülen mit 0,8 ccm Tyrodelösung, Neutralisation mit n/10 NaOH gegen Bromthymolblau als Indikator durch Tüpfelung, Auffüllen mit Tyrodelösung auf 4 ccm. Damit wäre der Extrakt zur biologischen Austestung fertig. Es ist dabei zu beachten, daß dieser in der Lösung nur kurze Zeit haltbar ist, d. h. schnell seine Aktivität verliert. Aufbewahrung ist in trockenem Zustand nach dem Abrauchen gut möglich.

Nach Abschluß der chemischen Verarbeitung wurde — wie üblich — die Auswertung des Histamingehaltes am mit Atropin behandelten Meerschweinchendarm vorgenommen. Besonders empfindlich war das untere Ileum, wo wir mit Leichtigkeit Empfindlichkeiten von 10^{-9} erhielten, trotz Anwendung von Atropin zur Ausschaltung einer eventuellen Cholinwirkung. Als geeignet zur Steigerung der Darmempfindlichkeit erwies sich uns eine vorgeschaltete Hungerperiode von 2 Tagen. Um mit dem Material sparsam umzugehen, wurden die Gefäße so klein wie möglich gehalten, etwa 4 ccm.

Der erhaltene Extrakt wurde so mit Tyrode verdünnt, daß auf 1 ccm Plasma des Ausgangs 4 ccm zur Verfügung standen. Dieser Extrakt befand sich dauernd im Wasserbad, so daß Temperaturdifferenzen nicht auftraten*. Der Zusatz erfolgte durch fein kalibrierte Tuberkulinspritzen, ebenso wie die Vergleichslösung von Histamindihydrochlorid**, auf das wir unsere Werte bezogen. Vorgelegte Histaminmengen ließen sich mit einer Genauigkeit von $< 20\,\%$ austesten.

Von Bedeutung für unser Vorhaben ist die Anwesenheit von Adrenalin oder Adrenalinkörpern im Extrakt, da sie jede Reaktion des Darmes auf Histamin unmöglich machen können. Diese Tatsache spielt bei Versuchen mit Adrenalin eine nicht so große Rolle, weil Adrenalin im Arbeitsgang — besonders vielleicht durch Trichloressigsäure, wie früher dargestellt — zersetzt wird. Aber auch hierin werden wir immer mit einer Störung rechnen müssen, da parallelgehende Adrenalinbestimmungen, die vorbereitet waren, aus äußeren Gründen nicht vorgenommen werden konnten. Die Werte bei Adrenalinanwendung werden wir deshalb als Minimalwerte

* Der Darm des Meerschweinchens, der sich bei lange hinziehenden Versuchen länger frisch halten soll, wird aber besser nicht bei der Temperatur des Wasserbades von 37,5°, sondern in eiskalter Tyrode aufbewahrt.

** Dieses Histamindihydrochlorid verdanken wir der Firma Hoffmann-La Roche.

auffassen müssen. Bei anderen Adrenalinkörpern, wie Ephedrin, Veritol und Sympathol kann jede Bestimmung illusorisch werden, da es sich in unseren Versuchen herausgestellt hat, daß diese Körper durch den Codeschen Arbeitsgang unbeschädigt hindurchkommen. Über den Antagonismus bei quantitativer Auswertung wird Speda berichten.

Resultate.

Da ein Nebenziel dieser Arbeit auch die Ausarbeitung der Methoden war, auf Grund deren weitere Untersuchungen[9, 10] erst ermöglicht wurden, ergab sich als ein Problem die Aufnahme von Histamin durch die Elemente des Blutes. Nach unserer ganzen Fragestellung wird natürlich nur Histamin insoweit Interesse haben, als es im Plasma, also pharmakologisch aktiv, vorhanden ist. Für die Folgen einer Gabe von Histamin, oder für das Resultat einer Abgabe aus den Geweben wird aber von Interesse sein, wie Histamin von den Blutelementen aufgenommen wird. Wir beschäftigten uns mit der Verteilung von Histamin zwischen Plasma und Erythrocyten. Die Aufnahme von Histamin durch die Leukocyten wird dann von geringerer Wichtigkeit sein, wenn sie Histamin aus dem Blut nach der Art eines Gleichgewichtes aufnehmen. Dann spielt nur der im Blut von den Leukocyten eingenommene Raum eine Rolle für unsere Frage. Nehmen wir aber eine elektive Aufnahme oder gar Verarbeitung von Histamin durch Leukocyten an, dann liegt ein ganzer Fragenkomplex vor, dessen Bearbeitung uns von unserem Thema weit abführen würde. Deshalb beschränkten wir uns auf die Permeabilität der Erythrocyten für Histamin.

Wir nahmen als Modell die Erythrocyten vom Schwein, da uns damit größere Mengen leicht zugänglich waren. Unser Verfahren war so, daß die Schweineerythrocyten, gewonnen aus defibriniertem Blut, nach wiederholtem Waschen an der Zentrifuge mit Histaminlösungen verschiedener Stärke im Verhältnis 1 : 1 versetzt wurden. Sie blieben $^1/_2$ Stunde stehen und die überstehende Lösung wurde verarbeitet und ausgetestet. Es ergab sich dabei, daß die Erythrocyten praktisch kein Histamin aufnahmen.

Dieses Resultat hat ein Analogon zu der Impermeabilität der Erythrocyten für anorganische Basen. Die Dauer des Diffusionsausgleiches von $^1/_2$ Stunde ist ausreichend sowohl für den Aufenthalt des injizierten oder aus dem Gewebe abgegebenen Histamins als auch für die anschließende Verarbeitung. Anrep[11] fand eine Aufnahme von Histamin, aber nur, wenn er ganz hohe Dosen hinzufügte bis fast 100 γ/ccm. Wir verwandten Konzentrationen von 0,005 γ—1,0 γ/ccm, also wie sie bei den Versuchen

---

[9] Eichler, O., u. G. Speda: Naunyn-Schmiedebergs Arch., im Druck. — [10] Eichler, O., u. G. Speda: Klin. Wschr. **1938**, S. 1811. — [11] Anrep, G. V., u. Mitarbeiter, J. Physiol. (Brit.) **95**, 476 (1939).

in corpore zu erwarten waren. In diesem Bereich ist auch nicht die Andeutung irgendeiner Adsorption zu bemerken, so daß wir als Entgiftungsmethode des injizierten Histamins das Eindringen in die Erythrocyten nicht zu beachten brauchen.

Adrenalinversuche.

Nach Festlegung und Einübung der Methodik wurde mit den Bestimmungen am Normaltier begonnen. Wir fanden den Wert in der Höhe von 0,04—0,05 γ/ccm seltener bis 0,1 γ/ccm unter der Voraussetzung, daß man nach der Operation das Tier lange genug liegen läßt, bevor die erste Normalentnahme stattfindet. Schon früher wurde die Diskrepanz zwischen unseren Werten und denen der Literatur (Marcou) diskutiert[9], die mit 0,01—0,02 γ/ccm angegeben werden. Ein Teil der größeren Zahlen bei uns bezieht sich vielleicht auf die Ausrechnung, weil unsere Werte überall auf Histamindihydrochlorid (Roche) bezogen sind. Histaminbase würde etwas über die Hälfte der Werte ergeben. Als Grund für die anfänglich höheren Werte wurde früher schon[9] die gelegentliche Abkühlung während der operativen Vorbereitung angegeben. Hier wollen wir gerade an Hand unserer Versuchsresultate vorwegnehmend auf die Adrenalinausschüttung während der Operation als mögliche Ursache hinweisen[13]. Die Bedingungen, die eine manchmal umfangreiche Operation verlangen, sind schwerere, als nur die Entnahme bei unverletztem Tier.

Wir haben bei der Zufuhr ausschließlich Dauerinfusionen von Adrenalin in die Vena jugularis sin. angewandt, in der Menge von 16,0 (9,5—28,5) γ pro kg/Minute. Diese Dauerinfusion ist von Wichtigkeit wegen der anfänglich auftretenden Adrenalinapnoe[12]. Beim Beginn ist diese Apnoe auch zu beobachten, löst sich aber sehr bald und es erfolgt eine unveränderte oder sogar stärkere Atmung. Da Apnoe an sich auch zur Histaminbildung führen kann[9], wäre die Eigenwirkung von Adrenalin erst nach längerer Infusion erwiesen. Wir geben einen Teil unserer ersten 16 gelungenen Versuche in Tabelle 1 wieder.

Ersichtlich ist aus allen diesen Versuchen, daß qualitativ durch Adrenalin eine Erhöhung des Histamins im Blute erfolgt. Diese Erhöhung fanden wir in allen Versuchen, aber geringer dann, wenn, wie z. B. im Versuch 21, durch die höhere Außentemperatur eine Hyperthermie mit Tachypnoe erfolgte. Die Zahl unserer Versuche wählten wir so hoch, weil wir nach unseren in der Einleitung niedergelegten theoretischen Vorstellungen die Hoffnung hegten, eine zahlenmäßige Beziehung (etwa irgendeinen Korrelationskoeffizienten) zwischen Höhe des Histamin-

[12] S. früher Eichler u. H. Mügge: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **159**, 633 1931). Diese Apnoe läßt sich übrigens auch bei Histamin finden, auch in unseren jetzigen Versuchen an der Katze. Ein Zusammenhang ist nach unseren Versuchen nicht von der Hand zu weisen. — [13] Schloßmann, H.: Ebenda **121**, 160 (1927).

Tabelle 1.

Nr.	Datum 1938	Adrenalin Inf. γ/kg/Min.	Zeit Min.	Blutdruck-steigerung mm Hg	Histamin γ/ccm Plasma	Bemerkungen
3	19. IV.	16,6	15	+ 55	0,08	
			30	+ 15	0,36	geringes Lungenödem
			90	− 85	0,36	Herzbeutelerguß
7	2. V.	18,2	25	+ 75	0,32	
			45	+ 35	0,40	Lungenödem
			75	+ 15	0,20	
			155	0	0,20	
			180	0	0,16	
8	6. V.	11,4	7	+ 110	0,45	starker Herzbeutelerguß
			37	+ 75	0,55	
9	10. V.	11,9	7	+ 50	0,16	
			27	+ 90	0,30	
			127	0	0,12	Lungenödem
			187	− 10	0,24	
10	12. V.	17,4	5	+ 20	0,175	
			35	0	0,175	Lungenödem
			73	− 110	0,179	
11	16. V.	28,5	5	+ 20	0,20	
			35	+ 30	0,38	starkes Lungenödem
			57	− 40	0,25	leichter Herzbeutelerguß
14	24. V.	10,9	7	+ 10	0,175	
			37	+ 15	0,20	kein Lungenödem
			157	− 10	0,30	
			187	− 85	0,50	
21	21. VI.	9,5	5	+ 65	0,05	
			33	+ 25	0,10	kein Ödem, kein Erguß
			123	− 45	0,08	
			158	− 100	0,08	

spiegels im Blute und der Blutdruckerhöhung zu finden. Uns stehen dafür über 50 Wertepaare zur Verfügung. Daß diese Hoffnung reichlich fehlschlug, zeigt schon ein Blick auf die Zahlenangaben. Ob solche Beziehung nicht doch besteht, ist aber trotzdem nicht erwiesen, denn heute wissen wir einige Faktoren, die den Histamingehalt im Blute beeinflussen. Unter diesen nenne ich nur die Atmung, Temperatur. Vor allem wird aber der andere Paarling den Blutdruck durch die notwendigen Blutentnahmen, die in diesen Versuchen noch zum Teil je 10 ccm benötigten, in unübersehbarer Weise verändern, so daß eine quantitative Beziehung vorläufig hoffnungslos ist, was uns bei Beginn der Untersuchung aber nicht so erschien.

Auf die Sektionsbefunde wollen wir hier noch besonders eingehen, die wir in der letzten Spalte der Tabelle 1 kurz wiedergegeben haben. Diese Protokolle wollen wir noch durch die Befunde der anderen Versuche ergänzen auf folgender Tabelle 2:

Tabelle 2.

Von 16 Tieren hatten:

Lungenödem 10 Tiere, davon { ohne Herzbeutelerguß 6
mit Herzbeutelerguß 4

kein Lungenödem 6 Tiere, davon { mit Herzbeutelerguß 4
ohne Herzbeutelerguß 2

Die Mehrzahl der Tiere hatte Lungenödeme. Daß eine kleinere Zahl der Tiere kein Lungenödem aufwies, lag aber daran, daß nach unseren Infusionen bei vielen Tieren ein Erguß im Herzbeutel aufgefunden wurde. Dieser war manchmal so stark und entwickelte sich so rasch, daß darauf der Exitus zurückzuführen war. Bei dem Erguß wird aber durch die Herztamponade zuerst der rechte Ventrikel betroffen und die Lunge dadurch schlechter mit Blut versorgt, eine Ödementwicklung dadurch erschwert.

Wir sehen deshalb bei den 4 Tieren, bei denen Herzbeutelerguß und Ödem zugleich registriert wurde, niemals ein ausgedehntes, sondern immer nur ein schwächeres Ödem, oder (zweimal) war das Ödem stark, aber der Herzbeutelerguß nur geringfügig. Bei der Katze 21 unserer Tabelle 1 finden wir weder Ödem noch Erguß, aber einen ganz besonderen Abfall des Blutdrucks. Also auch hier das Zeichen, daß zur Ödementstehung ein hämodynamisches Element gehört, zum mindesten genügende Arbeit des rechten Ventrikels. Bei dem prozentualen Anteil der Lungenödeme ist aber in diesen Versuchen zu berücksichtigen, daß ebenso wie in Versuch 21 durch die häufig wiederholten Aderlässe die Entlastung des rechten Ventrikels und damit eine Hemmung der Lungenödembildung eintritt.

Histamingaben.

Nach dem Befund der Histaminfreisetzung durch Adrenalin ergab sich wiederum in Verfolg unserer theoretischen Belange die Frage, welcher Teil der Adrenalinwirkung durch Histaminkonzentrationen, wie sie von uns gemessen wurden, beseitigt wird. Dazu mußten wir aber erst den Histamingehalt feststellen, wie er nach Histamingaben auftritt. Deshalb lag hier unser erstes Beginnen, das uns aber nicht zum erhofften Erfolge führte.

Orientierende Versuche mit einmaliger intravenöser Injektion von 500 γ/kg Histamin wurden nur zwei ausgeführt. Wir geben die Blutdruckänderungen und Histamingehalte eines Versuches auf Tabelle 3 wieder.

Tabelle 3.

Minuten nach der Injektion:	1	3	5	15	30	75
Abfall des Drucks in mm Hg	— 60	— 80	— 40	— 10	— 35	— 70
Histamin in γ/ccm	1,4	0,6	0,3	0,12	0,16	0,16

Bei dem zweiten Versuch wurden nach 1 Minute sogar 8 γ/ccm Plasma gefunden mit langsamerer Abnahme (2 γ nach 3 Minuten) in Zusammenhang mit der schon vorher erwähnten[12] Apnoe nach Histamin.

Der Versuch zeigt eine Inkongruenz zwischen Blutdruckwirkung und Histamingehalt. Der Blutdruck kehrt langsamer zur Norm zurück als der Histamingehalt. Es ist deutlich, daß ein Versuch auf diesem Wege die verminderte Wirkung von Adrenalin durch den Histamingehalt im Blute zu erfahren, vergeblich sein muß.

Unser nächster Schritt war deshalb, die gleichmäßige Histamininfusion anzuwenden.

Von 7 Versuchen mit infundiertem Histamin geben wir vier auf unserer Tabelle 4 wieder. Aus dieser Tabelle ist wiederum die Inkongruenz zwischen Histamingehalt und Blutdrucksenkung ersichtlich.

Tabelle 4.

Nr.	Datum	Vor der Infusion		Während der Infusion				
		Blutdruck	Atmung	Histamin	Inf. Histamin bis zur Blutentnahme	Gef. Histamin	Blutdruck	Atmung
	1939	mm Hg	ccm/Min.	γ/kg/Min.	γ/kg	γ/ccm	mm Hg	ccm/Min.
23	19. VI.	175	950	0,2	6	0,03	125	2000
				1,0	35	0,04	100	1350
					65	0,20	75	1500
25	23. VI.	150	650		46	0,24	75	800
				3,1	133	0,24 (?)	70	820
					238	0,80	60	950
26	27. VI.	130	600		4	0,08	60	1200
					12	0,04	80	1200
				3,9	31	0,03	130	750
					77	0,08	100	750
					193	0,16	60	770
27	28. VI.	100	500		4	0,24	60	400
				4,0	12	0,08	60	550
					20	0,12	40	200
					240	0,14	75	375

Wir sehen, wie durch die Histamininfusion die Atmung vermehrt wird. Entsprechend früheren Hinweisen[9] erfolgt dann eine stärkere Entgiftung des Histamins in der Lunge, eine andere Auslegung ist hier gar nicht mehr vorhanden. Man sieht Histaminwerte im Plasma, die die Norm nicht überschreiten, machmal sogar unterschreiten. Es ist erstaunlich, daß die Blutdrucksenkung trotzdem bestehen bleibt. Wir müssen annehmen, daß die im ersten Stoß durchgehenden Mengen in der Peripherie doch Änderungen setzen, die länger anhalten. Natürlich kehrt auch hierbei der Blutdruck trotz Infusion — wie bei Katze 26 auf der Tabelle 4 — auf den ursprünglichen Wert zurück. Es war darauf hingewiesen worden[14],

[14] Eichler, O., u. H. Killian: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **159**, 606 (1931)

daß dieser Effekt begleitet würde von einem Stoffwechselvorgang, der im Sinne einer Säureausschwemmung verläuft.

Wenn die infundierte Menge Schritt für Schritt gesteigert wird, wird plötzlich eine Grenze sichtbar (Tabelle 4), an der die Kapazität der Lunge nicht mehr ausreicht. Es kommt zum Durchbruch großer Mengen. Wenn dieser lange Zeit besteht, kommt es plötzlich zum Zusammenbruch der Atmung. Dann steigt ganz plötzlich der Histamingehalt bis auf das 100fache und mehr an. Wir sehen also einen ganz anderen Verlauf wie bei den einmaligen Injektionen.

Wenn man sich die Mengen ansieht, die bei Dauerinfusion zum Tode führen, erkennt man, daß die Verträglichkeit bei einzelnen großen Dosen viel besser ist, als bei den langsamen Infusionen. Schon früher[15] wurde beobachtet, daß die Tiere die Infusion besser und vielfache Mengen vertragen, wenn man gelegentlich kurze Unterbrechungen der Infusion vornimmt. Die Lunge benötigt offenbar eine gewisse Zeit zur Wiedergewinnung der Entgiftungsfunktion. Dieser Mechanismus unterliegt anscheinend nicht der Tachyphylaxie der anderen Funktionen. Die Tendenz zum Lungenödem wird größer.

In einigen nebenbeilaufenden Versuchen wurde die Frage aufgeworfen, ob eine Histaminzersetzung nicht in der Lunge stattfände, sondern im Blute, etwa durch Abgabe von Histaminase. Wenn das der Fall wäre, würde natürlich unsere Messung mit erheblichen Fehlern belastet sein, da die Histaminase nicht nur im Blute selbst, sondern auch noch nach der Entnahme bis zur vollendeten Eiweißfällung fortwirken könnte. Da Histaminase nach Best[16] durch HCN inaktiviert wird, haben wir überall sofort ausreichend KCN hinzugefügt. Bei 2 Versuchen (Nr. 25 und 26) fanden wir ein Histamin zerstörendes Element im Blute (Vergleich: Blut mit zugesetztem Histamin teils mit KCN versetzt, teils nicht), aber bei keinen anderen Blutproben. Da wir sowieso HCN zusetzten, spielt aber dieser Einwand für unsere Auslegung keine Rolle.

Da in unseren bisherigen Versuchen die Atmung das beabsichtigte Versuchsresultat außerordentlich störte, sind wir jetzt so vorgegangen, daß die Tiere künstlich beatmet wurden.

Die Resultate von drei Versuchen geben wir auf Tabelle 5 wieder. Die Resultate dieser Tabelle bedürfen keiner Erläuterung, soweit es den ersten Teil angeht und zeigen, daß offenbar die Atmung vorher unsere Resultate gestört hat.

Wir sind nun einen Schritt weitergegangen, indem wir durch einen zweiten Infusionsapparat zu Histamin auch Adrenalin hinzufügten. Das Resultat dieses Eingriffes in unseren drei angegebenen Versuchen ist nicht so, wie wir es erwarteten. Addition von Adrenalin führt nicht immer zu

[15] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 433 (1937). — [16] Best, C. H., u. E. W. Mc Henry: J. Physiol. (Brit.) **70**, 349 (1931).

Tabelle 5.

Nr.	Datum	Vor der Infusion		Während der Infusion					
		Blutdruck	Gef. Histamin	Inf. Histamin	Gef. Histamin	Blutdruck	Mischinfusion Histamin + Adrenalin	Gef. Histamin	Histamin abgesetzt Gef. Histamin
	1939	mm Hg	γ/ccm	γ/kg/Min.	γ/ccm	mm Hg	γ/kg/Min.	γ/ccm	γ/ccm
35	25. VII.	140	0,04	3,6	0,12 0,12	100 80	3,6 H. + 29,6 A.	0,14	0,14
36	26. VII.	125	0,05	5,7	0,19 0,13	105 105	5,7 H. + 21,7 A.	0,12	0,20
37	28. VII.	125	0,06	6,7	0,16 0,24	80 50	6,7 H. + 26,3 A.	0,16	0,16
38	31. VII.			6,6	0,18	140	6,6 H. + 46,3 A.	0,24 0,26	

einer weiteren Zunahme von Histamin im Blute (außer in dem Versuch 38 der Tabelle und einigen anderen), sondern einmal sogar zu einer Abnahme. Wird jetzt Histamin fortgelassen bei Weiterbestehen der Adrenalinzufuhr, dann finden wir wieder keine Abnahme, sondern im weiteren Verlauf häufig sogar eine Zunahme.

Diese letzten Versuche sind durch das auftretende Lungenödem außerordentlich gestört. Wir haben, abgesehen von den angegebenen, noch eine große Zahl von gemischten Infusionen von Histamin und Adrenalin ausgeführt. Das Resultat war nach früheren Versuchen[15] nicht unerwartet. In diesen früheren Versuchen wurde bei einer chronischen Infusion von Histamin durch eine einmalige, durchaus nicht toxische, sondern im normalen therapeutischen Bereich liegende Injektion von Adrenalinkörpern (Adrenalin, Sympathol, Veritol, Ephedrin) ein ganz akutes Lungenödem erzielt, sofern die Histamininfusion einige Zeit gedauert hatte. Hier könnten wir durch gleichzeitige Infusion Lungenödeme schon in 15—30 Minuten erzielen. Wir verwandten zur Infusion Adrenalin und Sympathol, weil diese Körper der Adrenalinreihe allein dazu brauchbar sind und sahen in jedem Falle, besonders gerade bei letzterem, schwerste Lungenödeme.

Es wurde schon früher[9] die Beziehung des Lungenödems zu der Messung der Atmung diskutiert. Zugleich wurde damals z. B. bei Morphin[9] festgestellt — und hier finden wir dasselbe bei Adrenalin — daß diejenigen Körper, die ein Lungenödem begünstigen, den Blutspiegel für Histamin erhöhen können, wie auch Histamin selbst. In unseren Versuchen mußten wir das dahin ergänzen, daß diese Vermehrung der Gefahr des Lungenödems durchaus nicht mit einer Erhöhung des Histaminspiegels im Blute parallel zu gehen braucht, z. B. die offenbare Toxizitätssteigerung des Histaminzusatzes durch Adrenalin, die keine Ergänzung in der Höhe des Histaminspiegels findet. Auch bei einfachen Infusionen von Histamin

allein kann es vorkommen, daß der Blutdruck allmählich wieder ansteigt, die Neigung zu Lungenödem wird nicht vermindert, also etwa wie die Füllung eines Gefäßes das überläuft.

Diskussion.

Bei der additiven Toxizität von Histamin + Adrenalin fällt auch noch besonders auf, daß die Infusion von Adrenalin den Histamingehalt im arteriellen Plasma mindestens so hoch steigen läßt wie bei gleichzeitiger Histamininfusion. Also wirken beide auch zugleich bei Adrenalin allein wie bei der Mischinfusion, und doch ist die Wirkung nicht dieselbe. Das läßt auf den Entstehungsort des Histamins und den Ort des Angriffs beim Lungenödem Schlüsse zu, die wir hier nicht weiter verfolgen wollen, da diese Fragen nicht spruchreif sind. Daß bei der rascheren Entstehung des Ödems bei Adrenalin + Histamin auch hämodynamische Funktionen eine Rolle spielen, ist selbstverständlich. Die durch die Histamininfusion infundierte Flüssigkeitsmenge (1 ccm in 5 Minuten) wird wohl auch eine Rolle spielen.

Hier wollen wir jedoch auf die Frage nach dem Le Chatelierschen Prinzip, dem Ausgangspunkt unserer Untersuchung, eingehen. Es ergibt sich die Möglichkeit, daß Histamin am Ort der Adrenalinwirkung selbst entsteht, dann hätten wir eine lokale „Regulation" vor uns, es könnte aber auch sein, daß Histamin erst in der Lunge frei wird, dann bestände die Möglichkeit einer weitergespannten Regulation. Schließlich (oder zugleich ?) könnte es sich auch um einen Vorgang handeln, der mit dem übereinstimmt, was Anrep[17] bei der Muskelkontraktion gefunden hat. Denn nach Cori[18] führt Adrenalin zur Milchsäurebildung in der Muskulatur. Damit wäre Histaminfreisetzung zugleich beigeordnet dem anaeroben Teil der Glykolyse, also unspezifisch.

Das Histamin könnte demnach sowohl aus der Peripherie als auch aus der Lunge stammen. Die Histaminmengen aus dem Muskel könnten aus einer relativen Anoxämie herrühren, ebenso wie die Milchsäure bei Cori bedingt sein könnte durch die Gefäßkontraktion der Muskulatur. Wenn Histamin gegeben wird, gemeinsam mit Adrenalin, kann es diese Adrenalinwirkung hemmen, also die Histaminfreisetzung in der Peripherie hindern. Histamin würde also die weitere Histaminbildung hemmen, ein lokaler Le Chatelier. Hier wäre ein Weg der Erklärung dafür, daß ein Adrenalinzusatz zur Histamininfusion nicht zu stärkerem Anstieg des Histaminspiegels im Blute führt. Allerdings wissen wir bisher noch nicht, ob Histamin in das erste Lungenödem übergeht, wodurch die Histaminkapazität der Lunge für kurze Zeit steigen könnte. Das gilt aber nur für den Beginn und die diffuse Ausbildung des Lungenödems. Später wird

[17] Anrep, G. V.: J. Physiol. (Brit.) **85**, 409 (1935). — [18] Cori, C. F., u. G. T. Cori: J. biol. Chem. (Am.) **84** 683 (1929).

das Blut um kompakt ödematöse Stellen her umgeleitet, die Kapazität der letzten Reste bald erschöpft mit Durchbruch in den großen Kreislauf.

Schwer ist die Beantwortung der Frage, wie der Organismus hier zwei sich gegenseitig in der Toxizität so begünstigende Substanzen gekoppelt freisetzt und mit beiden fertig wird. Vielleicht werden wir solche Steigerungen der Giftigkeit nicht finden bei den kleinen Konzentrationen (und der kurzen Zeit), z. B. von Adrenalin, die der Organismus verwendet. Solche Einwände führen aber nicht weiter. Für die Feinheit der Probleme sind die Methoden noch zu roh.

Zusammenfassung.

Die von Code ausgearbeitete Methode der Histaminbestimmung im Plasma wird auf kleine Blutmengen umgearbeitet.

Bei Verteilungsstudien zeigt sich, daß Histamin nicht in die Erythrocyten hineingeht.

Es wird gefunden, daß durch Adrenalininfusionen Histamin frei wird.

Die Einwirkung chronischer Infusionen von Histamin auf den Histamingehalt im Plasma wird verfolgt und der Zusammenhang mit der Atmung dargestellt.

Gleichzeitige Infusionen von Adrenalin + Histamin, die jedes allein zum Lungenödem führen, führt zu rascherem Ödem, aber die Wirkung auf den Histamingehalt im Blute addiert sich meist nicht.

Diskussion der Zusammenhänge nach dem Le Chatelierschen Prinzip.

Aus der IV. Medizinischen Universitätsklinik, Robert Koch-Krankenhaus, Berlin.
(Leiter: Prof. Dr. med. Dennig.)

Über künstliche Steigerung der körperlichen Leistungsfähigkeit.

1. Einleitung.

Von

Prof. **H. Dennig.**

(Eingegangen am 4. April 1940.)

Das natürlichste Mittel, die körperliche Leistungsfähigkeit des Gesunden zu steigern, ist das Training. Dabei lassen sich so viele Veränderungen fast aller Organsysteme und Funktionen nachweisen, daß die Entscheidung, wo die maßgebliche Verbesserung der Arbeitsbedingungen einsetzt, sehr schwierig ist. Dasselbe trifft für die Steigerung körperlicher Leistungsfähigkeit durch künstliche Eingriffe in die Ernährung, in die Lebensweise und auf arzneilichem Wege zu. An den verschiedensten Stellen vermögen günstige und ungünstige Änderungen einzutreten, die sich wieder in ihrer Gesamtheit verstärken oder beeinträchtigen können.

Wenn wir einen Einblick in die Möglichkeiten einer Leistungssteigerung bekommen wollen, so ist es notwendig, diese Frage von den verschiedensten Seiten aus anzugehen und Vergleiche anzustellen. Hier kann selbstverständlich die Frage der Dopings beim Sport keine Rolle spielen. Im Vordergrund steht die Lösung einer wissenschaftlichen Frage, deren praktische Anwendung dann eine sekundäre ist.

In der Folge berichten wir über verschiedene Versuche, die körperliche Leistung künstlich zu steigern. Um Wiederholungen zu vermeiden, geben wir zunächst einen kurzen Überblick über unsere bisherigen Ergebnisse, die hauptsächlich den Säure-Basenhaushalt betreffen, und über die allgemeine Methodik.

1931 haben wir gezeigt, daß in künstlicher Alkalose die Leistungen erheblich gesteigert, in Acidose dagegen vermindert werden[1,2,3]. Unter sonst gleichen Bedingungen konnte z. B. das Laufen auf einer Tretmühle oder das Fahren auf dem Fahrradergometer in Alkalose um 20—100% länger durchgehalten werden als im normalen Zustand; Acidose verschlechterte die Leistung in derselben Weise.

[1] Dennig, Talbot, Edwards u. Dill: J. clin. Invest. (Am.) IX, Nr. 4 (1931). — [2] Dennig, Peters u. Schneikert: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **165**, 161 (1932). — [3] Dennig: Dtsch. med. Wschr. **1937**, S. 733.

Die Analyse über den Angriffspunkt dieser Veränderungen macht erhebliche Schwierigkeiten. In vielen Punkten gleichen die durch Alkalose hervorgerufenen Veränderungen denen des Trainings: erhöhte Alkalireserve, Verschiebung des weißen Blutbildes im Sinne einer Lymphozytose, bis zu praetetanischen Erscheinungen, wie sie den Zustand des Übertrainings kennzeichnen. Es kann kein Zweifel darüber herrschen, daß bei gewissen Arbeiten die Anreicherung von sauren Produkten, insbesondere Milchsäure, im Körper eine so starke Acidose hervorruft, daß hierdurch die Arbeitsfähigkeit begrenzt wird. Andererseits hat sich gezeigt, daß es dabei nicht auf die absoluten p_H-Werte ankommt, sondern wahrscheinlich — wenigstens bis zu einem gewissen Grade - auf die Geschwindigkeit der Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration in der Zeiteinheit[4].

Weiterhin fand sich, daß Säureanhäufung nur bei bestimmten Arbeiten, die in kurzer Zeit zur Erschöpfung führen, eine Rolle spielt, während bei langdauernder Arbeit keine merkbare Acidose eintritt[5].

Der Sauerstoffverbrauch während der Arbeit ist in Alkalose etwas geringer als im normalen Zustand. Da gleichzeitig eine höhere Sauerstoffschuld eingegangen wird, bleibt der Gesamtverbrauch an O_2 ungefähr gleich[7]. Diese Verschiebungen des O_2-Verbrauchs während der Arbeit und der Erholung liegen aber innerhalb der Fehlergrenzen der Methodik, so daß wir sie noch vorsichtig beurteilen müssen.

Eine erhebliche Rolle dürfte wohl das Atemvolumen spielen, das in Alkalose vermindert und in Acidose erhöht ist. Da bei Alkalose weniger häufig und weniger tief geatmet werden muß, kann hier Muskelarbeit eingespart werden. Außerdem fällt das die körperliche Erschöpfung immer begleitende Gefühl der Dyspnoe weitgehend weg.

Eine andere Möglichkeit sahen wir darin, daß Eingriffe in den Wasserhaushalt einen maßgebenden Einfluß haben könnten. Eine Wasserretention, die unter Alkalose durch Natriumsalze entsteht, müßte durch erhöhte Schweißabgabe die Temperaturregulation während der Arbeit besonders günstig gestalten. Es hat sich aber gezeigt, daß dies nicht von ausschlaggebender Bedeutung ist, denn die Leistungssteigerung läßt sich auch in einer mit Kaliumsalzen hervorgerufenen Alkalose, die zu einer Wasserverarmung führt, erzielen[6]. Auch hat sich die Arbeitsleistung weitgehend unabhängig von der abgegebenen Schweißmenge gezeigt[7].

Wieweit die Leistungssteigerung auf diese Teilmomente zu beziehen ist, läßt sich noch nicht festlegen. Das Maßgebende ist jedenfalls der alkalotische Zustand, da die Leistungssteigerung sich mit voller Sicherheit durch das Einnehmen der verschiedensten Salze erreichen läßt, die eine Alkalisierung hervorrufen: Das ist bisher nachgewiesen mit Natrium bicarbonicum[2], Natrium citricum[7], Kalium bicarbonicum[6], Kalium

[4] Dennig: Verh. Kongr. Inn. Med. Wiesbaden **1931**, S. 120. — [5] Hans: Dissertation Berlin 1938. — [6] Dennig, Becker-Freyseng, Krause u. Albath: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 611 (1937). — [7] Becker: Dissertation Berlin 1936.

citricum[6], Natrium succinicum[8,9,10], sowie für eine alkalisierende Kost, die hauptsächlich mit Sojamehl[11,12] hergestellt wird. Umgekehrt ruft die Acidose durch Einnahme von Ammoniumchlorid eine ebenso starke Verminderung der Arbeitsfähigkeit hervor.

Über die Methodik sei kurz folgendes vermerkt:

1. Um ein Maß der Leistungsfähigkeit zu erhalten, ist es am günstigsten, die Arbeit bis zur Erschöpfung durchführen zu lassen. Der Augenblick der Erschöpfung ist aber nur bei einer kurzdauernden Arbeit scharf zu präzisieren. Unsere Versuche betreffen daher bis jetzt im wesentlichen kurze Arbeit von etwa 5—45 Minuten. Wir halten es für durchaus möglich, daß eine langdauernde Arbeit andere Bedingungen ergibt. Sie bedürfen einer besonderen Prüfung. Als Arbeit haben wir im Laboratorium Treten auf einem Fahrradergometer und Laufen auf einer Tretbahn gewählt, wobei immer ideal gleiche Arbeitsbedingungen vorliegen.

2. Der größte Fehler, der die Ergebnisse verändern kann, ist die Suggestion. Sie ist in unseren Versuchen dadurch ausgeschaltet worden, daß die Versuchspersonen nicht wußten, was sie einnahmen, und daß immer wieder Leer- und Täuschungsversuche mit Gaben von indifferenten Mitteln und Gegenversuche mit leistungsmindernden Mitteln eingelegt wurden.

3. Eine weitere Fehlerquelle ist das Training, das die Leistungen bekanntlich sehr stark verbessert. Unsere Versuche fingen daher immer erst an, wenn durch etwa vierwöchiges Training eine Konstanz der Leistung erzielt war.

4. Eine Besonderheit unserer Versuchsanordnung ist die, daß sich in den meisten Fällen die einzelne Versuchsreihe nur auf eine Versuchsperson bezieht. Diese Beschränkung auf wenige Versuchspersonen ist aber bedingt durch die große Zahl der Trainings-, Leer-, Täuschungs- und Hauptversuche. Es ist daher durchaus möglich, daß die Nachprüfung an einer großen Zahl von Versuchspersonen weitere neue Erkenntnisse fördert, die durch individuelle Verschiedenheiten hervorgerufen sind. Zunächst erschien es uns aber wichtig, an einem gut durchgearbeiteten, wenn auch kleinen Versuchsmaterial die Grundlagen zu finden.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die freundliche Unterstützung bei unseren Untersuchungen.

[8] Becker-Freyseng u. Liebich: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 598 (1938). — [9] Rendenbach: Dissertation Berlin 1939. — [10] Schostak: Dissertation Berlin 1939. — [11] Dennig, Gottschalk u. Teutscher: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **174**, 468 (1934). — [12] Krause, Becker-Freyseng u. Gilbricht: Ebenda **186**, 617 (1937).

2. Leistungssteigerung in künstlicher Alkalose bei wiederholter Arbeit.

Von

Prof. **H. Dennig**, Dr. **H. Becker-Freyseng***, Dr. **R. Rendenbach** und Dr. **G. Schostak**.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. April 1940.)

Wenn nach den genannten Untersuchungen[1] eine künstliche Alkalose die Leistungsfähigkeit beim Laufen oder Radfahren steigert, so erhebt sich die Frage, ob eine solche veränderte Betätigung nicht im weiteren Verlauf ungünstige Wirkungen nach sich zieht. Es war also zu prüfen, ob die alkalotische Leistungssteigerung auf Kosten der späteren Leistungsfähigkeit zustande kommt, ob gewissermaßen Leistungsschulden eingegangen werden, die bei einer wiederholten Arbeitsbelastung ungünstig und daher leistungsmindernd wirken könnten.

Wir untersuchten diese Frage, indem wir eine gewisse Arbeit nach einer Pause wiederholen ließen, um zu sehen, ob diese zweite Leistung gegenüber den Kontrollversuchen etwa vermindert würde. Die beiden gesunden jungen Männer P. R. und G. Sch. arbeiteten am Fahrradergometer. Die eigentlichen Alkaloseversuche wurden erst nach längerem Training unternommen, die Suggestion durch Täuschungsversuche mit Milchzucker und Kochsalz und Gegenversuche mit Ammoniumchlorid (dreimal täglich 4 g) ausgeschlossen. Die Alkalose wurde durch Einnehmen von täglich dreimal 10 g bernsteinsaurem Natrium oder von dreimal 10 g des folgenden Alkalimischsalzes erzielt:

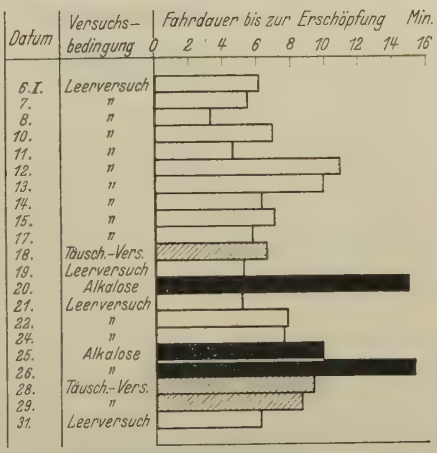


Abb. 1. Unter der Wirkung künstlicher Alkalose kann erschöpfende Arbeit auf dem Fahrradergometer länger durchgehalten werden.

Natrium bicarbonicum	5,0
Natrium succinicum	3,5
Kalium citricum	1,5

Ein Vorversuch in Abb. 1 zeigt, wie unter bernsteinsaurem Natrium eine Steigerung der Leistung um 100% erzielt wird.

---

* Damaligen Assistenten der Klinik.

[1] 1. Mitteilung, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**. 258 (1940).

Die eigentlichen Hauptversuche verliefen so:

Der ersten Fahrt auf dem Fahrradergometer, die teils vor dem Beginn der Erschöpfung (Abb. 2) vom Versuchsleiter unterbrochen, teils von der Vp. bis zur Erschöpfung (Abb. 3) durchgeführt wurde, folgte eine Pause von 15 Minuten. Die Vp. lag während dieser Pause auf einem Ruhebett. Anschließend fand bei gleicher Ergometerbelastung wie das erstemal die zweite

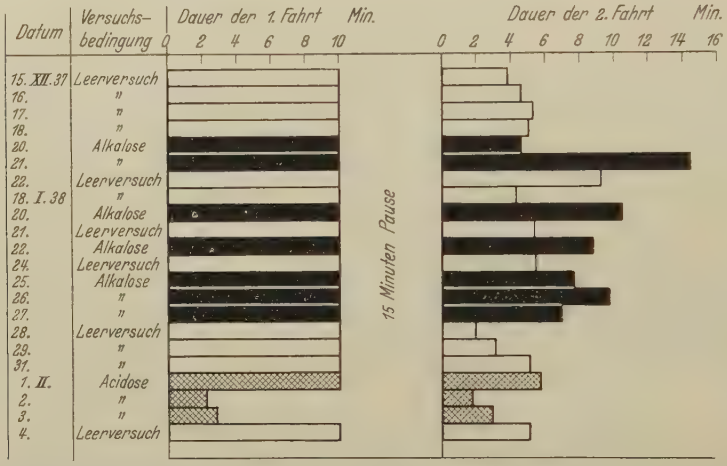


Abb. 2. Alkalose wirkt auch bei wiederholter Arbeit leistungssteigernd. Die erste Arbeit wurde vor der Erschöpfung abgebrochen, es folgte eine Pause von 15 Minuten. Die zweite Fahrt führte bis zur Erschöpfung.

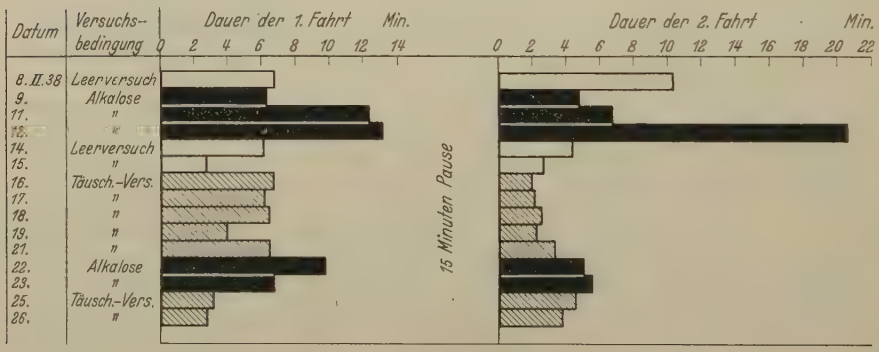


Abb. 3. Wie Abb. 2, außer daß in diesen Versuchen auch schon die erste Fahrt zur Erschöpfung führte.

Fahrt statt, die in jedem Falle bis zum Eintritt der Erschöpfung dauerte. Die Pausendauer von 15 Minuten hatten wir gewählt, weil die Versuchspersonen angegeben hatten, sich nach dieser Zeit wieder erholt zu haben. Auch hatten dann Puls und Atemfrequenz etwa ihre Ausgangswerte erreicht. Aus der unter gleicher Belastung deutlich verminderten Leistungsfähigkeit

bei der zweiten Fahrt geht allerdings hervor, daß objektiv die Erholung keine vollständige war.

Abb. 2 enthält die Werte von Versuchen, bei denen die erste Fahrt auf Angabe des Versuchsleiters nach 10 Minuten abgebrochen wurde, zu einem Zeitpunkt also, an dem die Vp. noch nicht erschöpft war. Die Erschöpfung wäre etwa 2—3 Minuten später eingetreten. Nur bei den Acidoseversuchen war die Erschöpfung nach wenig mehr als 2 Minuten eingetreten. Die zweite Fahrt dauerte, wie schon erwähnt, immer bis zur Erschöpfung.

In einer anderen Versuchsreihe wurde beidesmal bis zur vollen Erschöpfung gefahren, wiederum mit einer dazwischen gelegten Pause von 15 Minuten. Beispiele von Versuchen mit je zwei zu Erschöpfung führenden Fahrten sind in Abb. 3 wiedergegeben. Der Ausgangswert für die Vp. R. lag zwischen 4 Minuten und 6 Minuten 50 Sekunden. Der Unterschied der Alkaliversuche gegenüber allen anderen ist für die erste wie für die zweite Fahrt sehr erheblich. Die Leistungsminderung im Anschluß an die dreitägige Alkalose (Versuche ab 14. II.) sind wohl auf eine reaktive Acidose zu beziehen.

Die leistungssteigernde Wirkung der Alkalose kann demnach nicht auf Kosten der späteren Leistungsfähigkeit zustande kommen. Unabhängig davon, ob eine erste Arbeitsbelastung bereits zur Erschöpfung geführt hat oder nicht, ist in Alkalose die Leistungsfähigkeit für eine zweite, nach einer Pause von 15 Minuten begonnenen Arbeit ebenfalls gesteigert.

Der leistungsmindernde Einfluß der Ammoniumchlorid-Acidose auf wiederholte Arbeit (Abb. 2) konnte nach den oben erwähnten Mitteilungen erwartet werden. Obwohl die Arbeitszeit und damit die Leistung nur etwa ein Drittel des Normalen betrug, gab die Vp. am Ende der 15-Minuten-Pause an, sich noch nicht erholt zu haben. Die Erholung nach körperlicher Arbeit, zumindest soweit sie subjektiv faßbar ist, hängt demnach nicht nur von der Größe der geleisteten Arbeit ab, sondern auch von der Erholungsfähigkeit des Körpers. Diese Ausgangslage scheint nach unseren Erfahrungen weitgehend vom Zustand des Säure-Basen-Haushalts bestimmt zu sein.

Zusammenfassung.

Um möglicherweise vorhandene schädliche Folgen der alkalotischen Leistungssteigerung zu erfassen, wird die Beeinflussung einer wiederholten körperlichen Arbeit untersucht. Die Leistungssteigerung ist auch bei wiederholter Beanspruchung vorhanden, was gegen schädliche Folgen der Alkalose spricht.

3. Der Einfluß künstlicher Alkalose auf die sportliche Leistung von Läufern und Schwimmern.

Von

Dr. H. Dorow, Dr. B. Galuba, Dr. H. Hellwig und Dr. H. Becker-Freyseng *.

(Eingegangen am 4. April 1940.)

Im Anschluß an die vorstehende Mitteilung [1] über die leistungssteigernde Wirkung der Alkalose berichten wir im folgenden über Versuche, die wir an Sportsleuten außerhalb des Laboratoriums anstellten. Die Versuchspersonen waren zum Teil bekannte deutsche Sportler**, alle wiesen Leistungen über dem Durchschnitt auf. Gute Sportsleute in genügender Anzahl zu solchen Versuchen zu bekommen ist schwierig. Es war uns nur dadurch möglich, daß zwei von uns (Galuba und Hellwig) selbst als aktive Sportler zu den beiden Trainingsmannschaften gehörten und damit das erforderliche Vertrauen ihrer Sportkameraden besaßen.

In unseren Versuchen wurde wieder auf die Geheimhaltung des zu erwartenden Ergebnisses, der einzunehmenden Mittel und der Einzelergebnisse streng geachtet. Die Versuchspersonen erhielten von dem Mischsalz Natr. bicarb. 4,0, Natr. Succinic. 4,5, Kal. citr. 1,5 zwei Tage je dreimal 10,0; in der gleichen Weise zur Täuschung ein Gemisch aus 9,0 Milchzucker und 1,0 NaCl. Zum Teil erhielten sie erst das Alkalosepulver, zum Teil erst das Täuschungspulver.

In den folgenden vier Tabellen bedeutet eine Differenz mit dem Vorzeichen + eine Leistungssteigerung gegenüber dem Leerversuch, mit — eine Leistungsverminderung.

Mit wenigen Ausnahmen bewirkte die Alkalose, wie die Tabellen 1—4 zeigen, eine Leistungssteigerung: Von den 4 Läufern über 1600 m (Tabelle 1) zeigten drei Leistungsverbesserungen von 3,6—7,6 Sekunden, während unter den Täuschungsbedingungen die Leistungen nur um 2,2 Sekunden schwankten. Die 3 Läufer über 3200 m (Tabelle 2) verbesserten alle ihre Zeiten bis zu 6,2 Sekunden. Unter den 6 Schwimmern über 400 m (Tabelle 3) konnten 5 ihre Leistung um 0,9—9,7 Sekunden steigern. Auch die Schwimmer über 200 m (Tabelle 4) erreichten unter Alkalose alle bessere Leistungen.

Die Ausnahmen sind folgende: 1. Läufer 2 aus Tabelle 1. Um hier einen Zufall auszuschalten, wurde bei ihm zweimal ein Alkaloseversuch durchgeführt. Beidesmal fand sich eine Leistungsminderung von etwa 7 Sekunden. 2. Die Vp. 1 aus Tabelle 3 schwamm unter Alkalose 3,5 Sekunden schlechter als sonst. Bei zwei weiteren Versuchspersonen (Nr. 1 Tabelle 2, Nr. 5 Tabelle 3) sind die Leistungssteigerungen nur sehr gering.

* Damaligem Assistenten der Klinik.

** Einzelheiten s. Galuba: Dissertation Berlin 1939; Hellwig: Ebenda 1940.

[1] 2. Mitteilung, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 261 (1940). — Vgl. auch 1. Mitteilung, ebenda **195**, 258 (1940).

Tabelle 1. 4 Läufer über 1600 m.

Vp.	Versuchsbedingung	Zeit	Versuchsbedingung	Zeit	Differenz	Versuchsbedingung	Zeit	Differenz
1	Leerversuch	4′ 38,2″	Täuschungsversuch	4′ 38,0″	+ 0,2″	Alkalose	4′ 34,6″	+ 3,6″
2	„	4′ 40,0″	„	4′ 38,2″	+ 1,8″	„	4′ 46,8″	− 6,8″
3	„	4′ 47,6″	Alkalose	4′ 40,0″	+ 7,6″	Täuschungsversuch	4′ 47,5″	− 7,5″
4	„	5′ 17,5″	„	5′ 13,0″	+ 4,5″	„	4′ 48,0″	− 0,4″
							5′ 16,1″	+ 1,4″

Tabelle 2. 3 Läufer über 3200 m.

Vp.	Versuchsbedingung	Zeit	Versuchsbedingung	Zeit	Differenz	Versuchsbedingung	Zeit	Differenz
1	Leerversuch	10′ 41,4″	Alkalose	10′ 40,0″	+ 1,4″	Täuschungsversuch	10′ 44,0″	− 2,6″
2	„	10′ 49,6″	„	10′ 45,0″	+ 4,6″	„	11′ 01,7″	− 12,1″
3	„	10′ 58,2″	Täuschungsversuch	10′ 57,0″	+ 1,2″	Alkalose	10′ 52,0″	+ 6,2″

Tabelle 3. 6 Schwimmer über 400 m.

Vp.	Trainings-Durchschnitt	Versuchsbedingung	Zeit	Differenz	Versuchsbedingung	Zeit	Differenz
1	7′ 38,5″	Alkalose	7′ 42,2″	− 3,7″	Täuschungsversuch	7′ 36,7″	+ 1,8″
2	7′ 22,0″	„	7′ 13,4″	+ 8,6″	„	7′ 23,4″	− 1,4″
3	6′ 33,0″	„	6′ 24,0″	+ 9,0″	„	6′ 32,0″	+ 1,0″
4	6′ 29,0″	Täuschungsversuch	6′ 31,0″	− 2,0″	Alkalose	6′ 24,1″	+ 4,9″
5	5′ 55,0″	„	5′ 54,8″	+ 0,2″	„	5′ 54,1″	+ 0,9″
6	5′ 50,0″	„	5′ 50,2′	− 0,2″	„	5′ 40,3″	+ 9,7″

Tabelle 4. 4 Schwimmer über 200 m.

Vp.	Trainings-Durchschnitt	Versuchsbedingung	Zeit	Differenz	Versuchsbedingung	Zeit	Differenz
1	3′ 25,0″	Täuschungsversuch	3′ 26,0″	− 1″	Alkalose	3′ 22,1″	+ 2,9″
2	3′ 20,0″	„	3′ 22,0″	− 2″	„	3′ 16,4″	+ 3,6″
3	2′ 50,0″	Alkalose	2′ 47,1″	+ 2,9″	Täuschungsversuch	2′ 49,0″	+ 1,0″
4	2′ 40,0″	„	2′ 38,0″	+ 2″	Alkalose	2′ 38,8″	+ 1,2″

Wovon diese Ausnahmen abhängen, läßt sich schwer sagen. Beide Läufer waren gerade in der Zeit der Versuche jeden Sonntag an Wettkämpfen beteiligt. Vielleicht befanden sie sich dadurch in so höchsttrainiertem Zustand, daß eine weitere Steigerung nicht mehr möglich war.

Von diesen wenigen Ausnahmen abgesehen, hat die große Überzahl der Versuche eine deutliche Leistungssteigerung sowohl beim Laufen wie beim Schwimmen ergeben. Der Grad der Steigerung ist absolut gemessen zwar nur gering, aber jeder Sporttreibende weiß, wie schwer es ist, eine Leistung nach abgeschlossenem Training nur um wenige Sekunden zu steigern. Außerdem stellt diese sportliche Arbeit, eine bestimmte Strecke in möglichst kurzer Zeit zu durchlaufen oder zu durchschwimmen, eine etwas andere Beanspruchung dar als die früher von uns gewählte Form der körperlichen Belastung, nämlich eine bestimmte körperliche Anstrengung (Laufen auf der Tretmühle, Fahren auf dem Ergometer) möglichst lange durchzuhalten. Die Ergebnisse stellen somit einen weiteren Beitrag dar über die Rolle des Säure-Basengleichgewichts bei körperlicher Arbeit.

Zusammenfassung.

Versuche an 7 Läufern und 10 Schwimmern sprechen für die leistungssteigernde Wirkung der künstlichen Alkalose.

---

4. Körperliche Leistungsfähigkeit und Arbeitsatemvolumen unter dem Einfluß von Schlafmitteln und Opiaten.

Von

Dr. **H. Becker-Freyseng** *, Dr. **H. Dorow** und Dr. **R. Schröder**.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. April 1940.)

Wie in der Einleitung[1] bereits geschildert ist, verhält sich unter dem Einfluß der künstlichen, leistungssteigernden Alkalose die Atmung des arbeitenden Organismus besonders günstig. Das Minuten-Atemvolumen wurde von mehreren Untersuchern erniedrigt gefunden bei fast unveränderter Atemfrequenz. Die gleichen Versuchspersonen, an denen diese Messungen vorgenommen worden waren, hatten auch angegeben, daß in Alkalose die beklemmende Dyspnoe beim Beginn der Erschöpfung kaum in Erscheinung trat. Der objektiv gemessenen und subjektiv empfundenen Veränderung der Atmung wurde auch bei der Erklärung der alkalotischen Leistungssteigerung eine wichtige Rolle zugesprochen.

---

* Damaligem Assistenten der Klinik.

[1] 1. Mitteilung, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 258 (1940).

Es ist nun eine Reihe Pharmaca bekannt, die als allgemein beruhigende Stoffe auch auf das Atemzentrum sedativ wirken und die als Dopingmittel zu der im Sport verbotenen Form künstlicher Leistungssteigerung verwendet werden. Es schien uns interessant, zu untersuchen, ob für diese Mittel eine Beziehung zwischen ihrer Wirkung auf die Atmung und ihrer Beeinflussung der körperlichen Leistungsfähigkeit besteht.

Wir stellten Versuche mit folgenden Mitteln an:

1. Opiate: Laudanon 0,02, Eukodal 0,02 subcutan, 25—30 Minuten vor Beginn der Arbeit.

2. Barbitursäurepräparate: Luminal 0,1 intramuskulär, 45—60 Minuten vor Beginn der Arbeit; Medinal 0,5 peroral, 55 Minuten vor Beginn der Arbeit.

3. Kalium bromatum 12,0 peroral, am Vortag.

Außerdem wurden Täuschungsversuche durchgeführt mit 1,0 physiologischer Kochsalzlösung subcutan 5—45 Minuten vor Beginn.

Die genannten Mittel üben auf die psychische Leistungsfähigkeit im allgemeinen einen hemmenden Einfluß aus. Für Luminal ebenso wie für Medinal geht dies aus ihrer Verwendung als Schlafmittel hervor, für Brom zeigte es Löwald[2]. Für die Opiate sind die Verhältnisse nicht so eindeutig, wie die anregende Wirkung dieser Stoffe auf den Organismus des Süchtigen zeigt. Die Herabsetzung der Erregbarkeit des Atemzentrums durch die Opiate ist allgemein bekannt. Das gleiche gilt auch für die Barbitursäurederivate[3].

Die Gefahr, die mit der Verabreichung von Opiaten verbunden ist, ließ die sorgfältige Auswahl der Versuchsperson und die Geheimhaltung der Versuchsanordnung bis nach Beendigung aller Versuche besonders streng angezeigt erscheinen. Die Vp., R. Schr., 24 Jahre alt, gesund, lief auf der Tretmühle bei gleichem Tempo mit gleicher Steigung täglich bis zur Erschöpfung. Das Training dauerte 4 Wochen. Bereits nach 14 Tagen waren konstante Werte erreicht, was verständlich ist, da die Vp. zur Zeit der Versuche sportlich sehr aktiv war.

In einer ersten Versuchsreihe wurde nur die Leistung gemessen. Das Ergebnis ist überraschend. Außer dem schon als Dopingmittel bekannten Laudanon wirkten auch Medinal und Luminal leistungssteigernd. Die Beobachtungen gewinnen dadurch an Wert, daß die Vp. neunmal die indifferente Kochsalzeinspritzung bekommen hatte, ohne eine suggestiv bedingte Leistungssteigerung zu zeigen. Auf die drei differenten Mittel hin trat jedesmal ein deutlicher Erfolg ein, was aus Abb. 1 zu erkennen ist*.

[2] Kräpelins psychophysische Arb. Bd. 1, H. 4. — [3] Beckmann: Dtsch. Arch. klin. Med. **117**, 418 (1915).

* Aus Gründen der Raumersparnis sei auf die ausführliche Darstellung verwiesen: R. Schröder: Dissertation Berlin 1939.

Während in den Leer- und Täuschungsversuchen die oberste Grenze bei etwa 8 Minuten Laufdauer liegt, konnte die Vp. unter Laudanon 12 Minuten, unter Medinal $9^1/_2$ Minuten, unter Luminal fast 9 Minuten laufen.

In der zweiten Versuchsreihe wurde durch Ventile geatmet und die Atemluft im Spirometer gemessen. Um die Untersuchung des Atemvolumens über eine längere Zeit hin zu ermöglichen und damit die Atemverhältnisse übersichtlicher zu gestalten, wurde die Arbeitsbelastung hier geringer gewählt (langsameres Tempo und geringere Steigung der Tretmühle). Die Erschöpfung trat unter diesen Bedingungen im Leer- und Täuschungsversuch durchschnittlich nach 12 Minuten 30 Sekunden auf. Aus Abb. 2 geht auch für diese zweite Versuchsreihe die leistungssteigernde Wirkung der verwendeten Arzneimittel hervor, ebenso die Beeinflussung des Atemvolumens. Die geringere Atmung ist aus dem tieferen Niveau der Kurven, die verbesserte Leistung aus der größeren Länge der Kurve ersichtlich. Atmung und Leistung verhalten sich umgekehrt proportional: Im Leer-

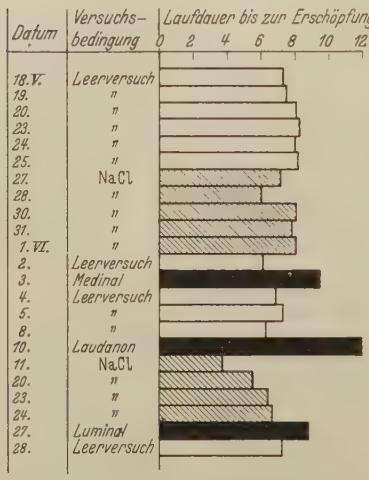


Abb. 1. Unter Einwirkung von Medinal, Luminal und Laudanon kann die Vp. eine sonst gleiche Arbeit (Laufen auf einer Tretmühle) länger durchhalten.

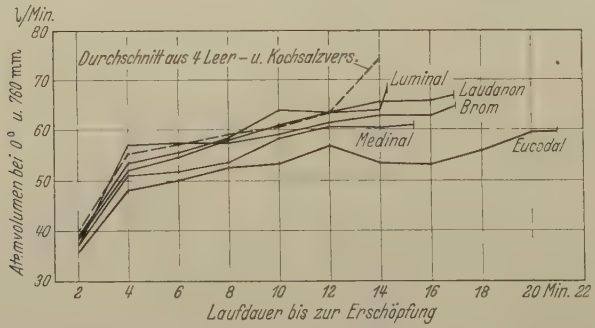


Abb. 2. Die Leistungssteigerung durch Schlafmittel und Opiate geht parallel mit einer Senkung des Arbeits-Atemvolumens.

versuch kürzeste Laufdauer und höchstes Atemvolumen, unter Eukodal längste Laufdauer und geringstes Atemvolumen. Dazwischen liegen die Kurven für Brom, Laudanon, Medinal und Luminal.

Wie die Abb. 2 weiter zeigt, entsprechen dem Zustand der Erschöpfung keineswegs gleichhohe Werte des Atemvolumens. Damit gehen auch die Angaben der Vp. über den Charakter des Erschöpfungsgefühls parallel: In den Leerversuchen mit den höchsten Atemwerten stand die Dyspnoe im Vordergrund. Unter der Einwirkung der Beruhigungsmittel erzwangen Schwindel, Benommenheit und auch Muskelschwäche das Arbeitsende. Trotzdem fühlte sich die Vp. hierbei nach der Arbeit früher erholt als in den Leerversuchen. Während nach einer durch künstliche Alkalose gesteigerten körperlichen Anstrengung niemals von den Versuchspersonen über Muskelkater geklagt wurde, trat diese Erscheinung nach dem Laudanonversuch sehr deutlich auf. Am Nachmittag dieses Versuchstages nahm die Vp. an einem Sportfest teil. Sie gab an, auch hier noch wesentlich bessere Leistungen als sonst vollbracht zu haben. Am nächsten Tag trat aber ein starker Muskelkater ein, der mehrere Tage anhielt und die Leistungsfähigkeit stark verminderte (s. Abb. 1).

Nach alledem scheint die geringere Beanspruchung der Atemmuskulatur und das Fehlen der Arbeitsdyspnoe an der Steigerung der körperlichen Leistungsfähigkeit wesentlich beteiligt zu sein. Außerdem ist es möglich, daß auch der Wegfall von Hemmungen den Eintritt der Ermüdung und Erschöpfung hinausschiebt. Die Grenze der Leistungsfähigkeit kommt unter der Wirkung der Schlaf- und Beruhigungsmittel nicht klar zum Bewußtsein. Während man analog der Herabsetzung der psychischen Leistungsfähigkeit auch auf rein körperlichem Gebiet eine Verminderung erwarten könnte, kommt es vielleicht gerade auf Grund der Dämpfung der nervösen und psychischen Regulationen zur Steigerung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Daß diese künstliche Durchbrechung von Regulationen einen unphysiologischen Weg zur Leistungssteigerung darstellt, zeigt uns das schon erwähnte Auftreten des Muskelkaters und der dadurch herabgesetzten Leistungsfähigkeit im Anschluß an den Laudanonversuch.

Zusammenfassung.

1. Unter Wirkung von Laudanon, Eukodal, Luminal, Medinal und Brom wird die körperliche Leistungsfähigkeit für erschöpfende Arbeit gesteigert.

2. Unter Einwirkung dieser Mittel besteht eine deutliche Beziehung zwischen Leistungsfähigkeit und Atemtätigkeit: Kleinstes Arbeits-Atemvolumen fällt mit größter Leistungsfähigkeit zusammen und umgekehrt.

5. Über die Beeinflussung der körperlichen Leistungsfähigkeit durch Cardiazol und Veritol.

Von

Dr. **H. Becker-Freyseng** *, Dr. **H. Dorow**, Dr. **O. Rave** und Dr. **W. Seidlitz**.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 4. April 1940.)

Bei der Bedeutung der Kreislaufregulationen für körperliche Arbeit lag es nahe, die Wirkung von Kreislaufanaleptica auf die körperliche Leistungsfähigkeit zu untersuchen. Wir wählten hierzu zwei der häufig angewendeten Mittel dieser Gruppe, nämlich Cardiazol und Veritol, sowie

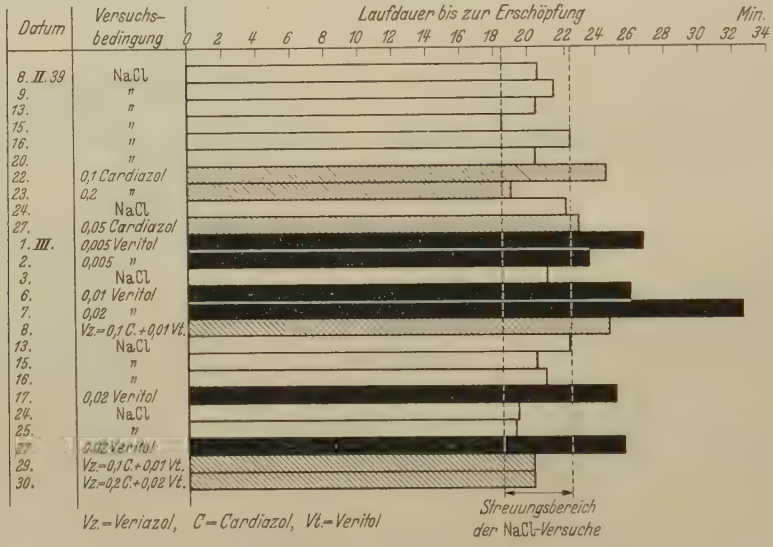


Abb. 1. Unter der Einwirkung von Veritol hält die Vp. einen erschöpfenden Lauf auf der Tretmühle länger durch. Unter Cardiazol und Veriazol liegen die Laufzeiten im Streuungsbereich der Leer- (Na Cl) Versuche.

eine Mischung beider, das Veriazol (1 ccm Veriazol = 0,1 Cardiazol + 0,01 Veritol). Bei verschiedener chemischer Herkunft besitzen sie auch verschiedene Angriffspunkte und Wirkungsweise.

Veritol hat auf den normalen Kreislauf eine ausgesprochen blutdrucksteigernde Wirkung, die dem Cardiazol bekanntlich fehlt. Für Cardiazol hatten bereits Groscurth und Bansi[1] eine leistungssteigernde Wirkung abgelehnt. Für Veritol lagen Arbeitsversuche** noch nicht vor.

* Damaligem Assistenten der Klinik.

** Vgl. 1. Mitteilung Naunyn-Schmiedebergs Arch, **195**, 258 (1940).

[1] Groscurth u. Bansi: Z. Kreisl.forsch. **1930**, 657.

Die vorhergehende Abbildung gibt die Ergebnisse einer Versuchsreihe wieder, bei der nach 4 Wochen Training die Vp. auf dem Laufband täglich bis zur Erschöpfung lief[2]. Es wurde vor jedem Versuch eine Injektion gegeben, entweder Veritol, Cardiazol oder Veriazol oder zur Täuschung 1,0 physiol. NaCl-Lösung. Der suggestive Faktor ist also bei allen Versuchen der gleiche. Die Abbildung zeigt, daß nach Veritol eine deutliche Leistungssteigerung auftrat. Die Ergebnisse aller Veritolversuche liegen außerhalb des Schwankungsbereiches der Täuschungsversuche, während die Wirkung von Cardiazol und Veriazol mit geringen Ausnahmen in den Zufallsbereich fällt.

Bekanntlich ist die Veritolwirkung nach etwa 45 Minuten erloschen. Läßt man die Vp., wie wir in weiteren Versuchen feststellten, in zwei Perioden arbeiten, dabei in der ersten nicht bis zur Erschöpfung, und legt eine 30 Minuten-Pause zwischen beide Läufe, so läßt sich eine leistungssteigernde Wirkung einer vor dem 1. Lauf gegebenen Veritolinjektion bei dem 2. nicht mehr nachweisen. Auf die Erholung dürfte danach Veritol ebensowenig wie Cardiazol einen Einfluß haben. Eine 10 Minuten vor dem 2. Lauf injizierte Veritolgabe ergibt natürlich eine Leistungssteigerung wie in der vorigen Versuchsreihe.

Bei einer zweiten Vp. war bei Fahrradarbeit in ähnlicher Weise eine Leistungssteigerung nach Veritol vorhanden, aber nicht so deutlich, weil die suggestiv bedingten Schwankungen größer waren.

Da eine der deutlichsten Eigenschaften des Veritols seine blutdrucksteigernde Wirkung ist, interessierte es, inwieweit Beziehungen bestehen zwischen der leistungssteigernden und der blutdrucksteigernden Wirkung. Es wurden daher an der zweiten Vp. während und nach der Arbeit Blutdruckmessungen nach der optischen Methode von Brömser und Ranke[3] vorgenommen, über die im einzelnen schon Rave[4] berichtet hat. Es sei deshalb hier nur zusammenfassend über diese Untersuchungen berichtet.

In Übereinstimmung mit zahlreichen Angaben aus dem Schrifttum[4] zeigte sich, daß mit Arbeitsbeginn unter physiologischen Bedingungen der systolische Druck steigt, der diastolische fällt. Im weiteren Verlauf der Arbeit ist meistens ein allmähliches Absinken des systolischen Druckes und ein Ansteigen des diastolischen auf ein neues „Arbeitsniveau" festzustellen. Der Eintritt der Erschöpfung ist aber nicht mit einem gesetzmäßigen Verhalten der Blutdruckgrößen verbunden. Teils wird die Amplitude zunehmend kleiner, teils zeigt sie eine terminale Vergrößerung. In keinem Versuch sahen wir einen kritischen Sturz des systolischen Druckes wie bei einem Kreislaufkollaps. Die Erschöpfung dürfte also bei unseren Versuchen nicht durch Blutdruckabfall bedingt gewesen sein. Es ist demnach zu erwarten, daß auch die Veritolwirkung nicht auf eine Beein-

[2] Ausführliche Darstellung: Seidlitz, W.: Dissertation Berlin 1939. — [3] Z. Kreisl.forsch. **25**, 11 (1933). — [4] Rave: Dissertation Berlin 1939.

flussung des Blutdrucks zu beziehen ist. Hierfür spricht nun auch das Verhalten des Blutdrucks während der Arbeit unter Veritol. Systolische Drucksteigerung und diastolische Senkung sind hier noch ausgeprägter als im Leerversuch. Besonders gegen Arbeitsende ist die Amplitude noch deutlich erhöht gegen den normalen Arbeitsversuch. Trotzdem aber die Amplitude groß bleibt, tritt die Erschöpfung ein. Wir können demnach weder im Leer- noch im Veritolversuch eine Beziehung zwischen Eintritt der Erschöpfung und Verhalten des Blutdrucks feststellen. Damit aber glauben wir auch die leistungssteigernde Wirkung des Veritols nicht auf seinen blutdrucksteigernden Faktor beziehen zu dürfen.

Da wir für die Wirksamkeit des Veritols die Blutdrucksteigerung nicht ursächlich heranziehen, bleibt die Frage offen, auf welch anderem Wege die Leistungssteigerung zustandekommt. Zu denken ist an einen zentral erregenden Einfluß. Vom Veritol ist eine zentral erregende Wirkung aus Narkoseweckversuchen (A. Stumpf[5]) und Untersuchungen am spinalen Reflexapparat der Katze (W. Koll und M. Koll-Schröder[6]) bekannt. Außerdem kann die kardiale Wirkung des Veritols zur Erklärung herangezogen werden. Nach Gollwitzer-Meier und Kroetz[7] schafft Veritol am Herzen ein besonders günstiges Verhältnis von Durchblutung und Sauerstoffverbrauch. Auch Schoppe[8] schließt aus Versuchen über die Veritolwirkung bei Gesunden, daß Veritol die Erholung des Herzens nach Belastung verbessert. Daß die übrigen Kreislaufwirkungen, wie die peripher ausgelöste Auffüllung des Kreislaufs, die Mobilisierung von Depotblut (H. Rein[9], K. Zipf[10]), während der Arbeit günstig sind, ist kaum fraglich.

Die Frage, warum nun Cardiazol trotz ausgesprochen zentral analeptischer Wirksamkeit keine körperliche Leistungssteigerung herbeiführt, läßt sich vielleicht zum Teil durch unsere vorher mitgeteilten Untersuchungen[11] über den Einfluß von Opiaten u. a. auf die Leistungsfähigkeit beantworten. Wir konnten zeigen, daß die Leistungssteigerung nach Opiaten und Barbitursäurederivaten in deutlicher Beziehung steht zu der sedativen Beeinflussung des Atemzentrums durch diese Mittel. Günstig wirken dabei sowohl der Mangel der subjektiv so unangenehmen Dyspnoe als auch eine sparsamere Atemmechanik, vielleicht auch ein besonders günstiges Verhältnis von Atemtiefe zu Atemfrequenz. Vom Cardiazol ist gerade im Gegensatz zu Morphin und den Schlafmitteln seine erregende Wirkung auf das Atemzentrum bekannt. Auf diese Weise könnte es dann bei der Arbeit zu einer unökonomischen Atemsteigerung kommen, die eine allgemeine zentralbedingte Leistungssteigerung verdeckt.

---

[5] Münch. med. Wschr. **1937**, S. 1869. — [6] Klin. Wschr. **1939**, S. 380. — [7] Ebenda **1939**, S. 869. — [8] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 257 (1939). — [9] Klin. Wschr. **1937**, S. 700. — [10] Ebenda **1937**, S. 1340; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 67a (1938). — [11] 4. Mitteilung, ebenda **195**, 266 (1940).

Zusammenfassung.

Die körperliche Leistungsfähigkeit, geprüft in Erschöpfungsversuchen auf dem Laufband und dem Fahrradergometer, wird durch Veritol gesteigert. Während der Arbeit durchgeführte Blutdruckmessungen machen es wahrscheinlich, daß diese Leistungssteigerung nicht an die Blutdruckerhöhung gebunden ist. Cardiazol wirkt nicht leistungssteigernd.

---

6. Über Steigerung körperlicher Leistungsfähigkeit durch Pervitin.

Von

Dr. **H. Heyrodt** und Dr. **H. Weißenstein.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 4. April 1940).

Als weiteren* adrenalinverwandten Stoff prüften wir das Pervitin[1]

Zahlreiche klinische Prüfungen des Pervitins mit interessanten Ergebnissen liegen schon vor. Es wird übereinstimmend eine zentralstimulierende Wirkung festgestellt. Ranke[2] berichtete z. B. über die Beseitigung des Schlafbedürfnisses, über Steigerung der Konzentrationsfähigkeit und Arbeitslust durch Pervitin und legte diesem neuen Pharmakon zum Hochreißen einer vorwiegend geistig ermüdeten Truppe, z. B. einer motorisierten Truppe nach anstrengendem Nachtmarsch, eine hohe militärische Bedeutung bei.

Nach günstigen Vorversuchen bei Langstreckenläufern auf einem Sportplatz hielten wir eine genauere Untersuchung im Laboratorium für wünschenswert.

Die gesunde Versuchsperson H. W. (23 Jahre alt, 1,72 m groß, 61 kg schwer) lief in einem 6wöchigen Training täglich in der Zeit von 10 bis 12 Uhr, nur mit sonntäglicher Unterbrechung. Die Versuchsperson wurde bis zur Beendigung der Versuche über Pharmakon und Fragestellung nicht informiert, um die Suggestion auszuschalten. Ebenso wurden ihr die erzielten Leistungen nicht mitgeteilt. Sie bekam täglich 20 Minuten vor Versuchsbeginn eine intramuskuläre Injektion von 1 ccm (im Training 4 Wochen lang täglich nur physiologische Kochsalzlösung, in der Hauptversuchsreihe auch physiologische Kochsalzlösung und in variierten Abständen 0,015 Pervitin) und führte ihren Lauf bis zur Erschöpfung durch. Während der ganzen Versuchsreihe führte sie eine möglichst gleichmäßige Lebensweise ohne Alkohol- und Nikotingenuß.

* Vgl. 1. Mitteilung, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 258 (1940).

[1] Hauschild, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 177 (1938); ebenda **191**, 465 (1938); Klin. Wschr. **1938**, 1257; ebenda **1938**, 1695. — [2] Ranke, O. F.: D. Deutsche Militärarzt, 4. Jahrg., S. 147 (1939).

Die Hauptversuchsreihe von 6 Wochen Dauer zerfällt in einen ersten Abschnitt von 5 Wochen mit 7 Pervitinversuchen, und in einen Alkali-Kontrollversuch* von einer Woche Dauer als zweiten Abschnitt. Daran schlossen sich noch 4 Leerversuchstage an mit Kochsalzlösung und ein Pervitinversuch, bei dem wir einmalig als Abschluß 2 ccm = 0,03 Pervitin gaben. Bei dem Alkaliversuch gaben wir 3 Tage lang 3mal täglich

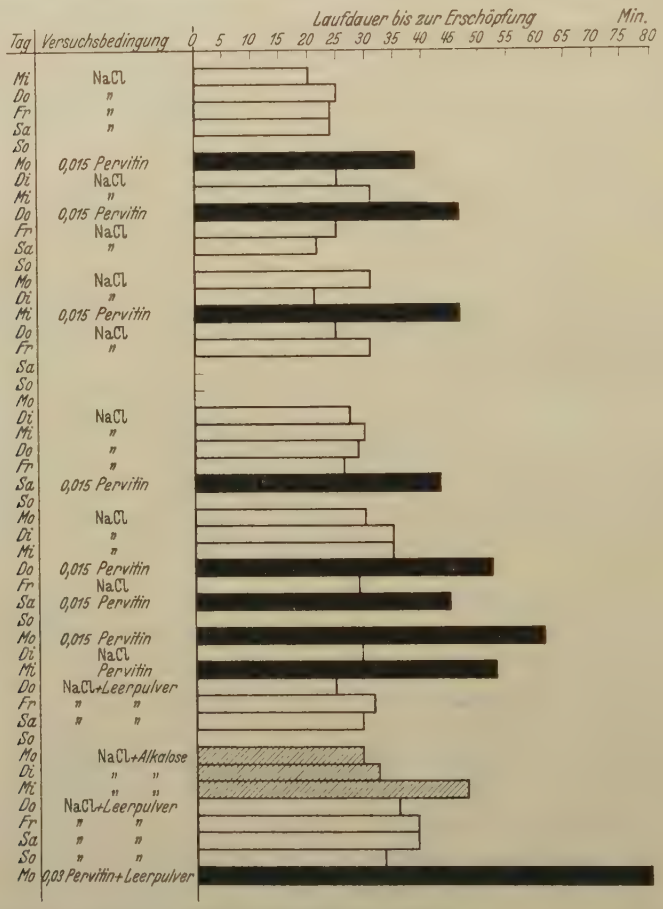


Abb. 1. Unter dem Einfluß von Pervitin läuft die Vp. unter sonst gleichen Bedingungen länger als in den Leerversuchen, bis die Erschöpfung eintritt.

Natr. bic. 5,0, Natr. citr. 3,5, Kal. citr. 1,5 in Oblaten, neben einer Injektion von 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung. Um wieder die Autosuggestion auszuschalten, gaben wir schon in der 5. Woche der Hauptversuchsreihe dreimal täglich die gleiche Menge Leerpulver (= Milchzucker 8,0, NaCl 0,5, Extr. faecis 1,0, Ol. Carvi gtt. I).

* Vgl. 1. Mitteilung, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 258 (1940).

Die Abbildung zeigt die Ergebnisse unserer Hauptversuchsreihe: aus ihr geht hervor, daß eine künstliche Steigerung körperlicher Leistungsfähigkeit über die natürliche Grenze auch nach Abschluß des Trainings durch Pervitin möglich ist. Dabei zeigt jeder Pervitinversuch diese eindeutige Leistungssteigerung. Setzen wir die Laufzeiten immer am Tag vor den Pervitinversuchen mit 100% an, so ergeben sich an den Pervitintagen Leistungen von 152 bis 242%.

Pulszählung, Blutdruckmessung, Elektrokardiogramm vor und nach jedem Versuch zeigten an den Pervitintagen kaum eine Veränderung gegenüber den Leerversuchstagen. Dagegen waren erhebliche subjektive Unterschiede vorhanden; die Versuchsperson merkte die Tatsache, daß sie ein Arzneimittel bekommen hatte, aber erst gegen Ende der Versuche, nachdem die eindeutige Leistungssteigerung schon feststand. Die Erschöpfung bei den Leerversuchen war dadurch charakterisiert, daß die Beine immer schwerer wurden, und starke Atemnot einsetzte. Diese beiden Hauptsymptome der eintretenden Erschöpfung fehlten bei den Pervitinversuchen fast ganz. Hier trat gegen Ende der Leistungsfähigkeit ein eigenartiges Frostgefühl der Kopfhaut auf. Brennen hinter dem Sternum, Leibweh und plötzliches Schwindelgefühl zwangen zum Aufhören. Die Vp. äußerte sich dann nach dem Lauf: „Heute habe ich das Mittel bekommen, das ich schon 3- oder 4mal hatte" und verwies auf die eben angegebenen andersartigen Zeichen der eintretenden Erschöpfung. Die längere Laufzeit mit Pervitin kam der Vp. nicht zum Bewußtsein; denn sie äußerte z. B. bei einem Versuch nach der 30. Minute, also ungefähr in der Zeit der Erschöpfung bei einem Leerversuch: „Ich laufe doch höchstens 5—7 Minuten". Die Erschöpfung am Ende des Laufes trat dann aber plötzlicher ein als unter normalen Umständen. Nach dem Lauf, besonders am Nachmittag, spürte die Vp. starke Unruhe, mangelnde Konzentrationsfähigkeit, Kopfschmerzen, heißen und kalten Kopfes. Diese Beschwerden waren jedoch nach kurzer Zeit durch Gaben von 0,3—0,6 g Pyramidon vollkommen zu beseitigen. Auf derartige Nebenerscheinungen der durch Pervitin erzeugten Leistungssteigerung wurde schon von Lehmann, Straub und Szakáll[3] sowie von Graf[4] hingewiesen.

Der Vergleich mit dem Alkaloseversuch zeigt, daß die Leistungssteigerung durch Pervitin etwa in der gleichen Größenordnung wie der Alkaloseeffekt liegt. Nach den Alkaloseversuchen waren jedoch keine Beschwerden vorhanden.

Zusammenfassung.

Neun Pervitinversuche zeigen jedesmal eine sehr erhebliche Leistungssteigerung, die jedoch mit nachträglichen Allgemeinbeschwerden erkauft wurde.

[3] Lehmann, G., Straub, H. und A. Szakáll: Arb. physiol. **10**, 680 (1939). — [4] Graf, O.: Ebenda **10**, 692 (1939).

Aus der Medizinischen Universitäts-Klinik Göttingen.
(Direktor: Prof. Dr. Schoen.)

Über die Beziehungen zwischen Hypophysenvorderlappen und Schilddrüse bei D-Hypervitaminose.

Von

Ernst Schulze.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 5. Mai 1940.)

In einer vorausgegangenen Untersuchung[1] wurde gezeigt, daß bei Vitamin D-Mangel eine leichte Aktivierung der Rattenschilddrüse und gleichzeitig damit eine Minderung des Gehalts der Hypophyse an thyreotropem Hormon auftritt. Es wurde daraus auf eine sekundäre Hemmung des Hypophysenvorderlappens (HVL) durch die aktivierte Schilddrüse geschlossen. Im folgenden soll in entsprechender Weise das Verhalten von Schilddrüse und HVL bei D-Hypervitaminose geprüft werden.

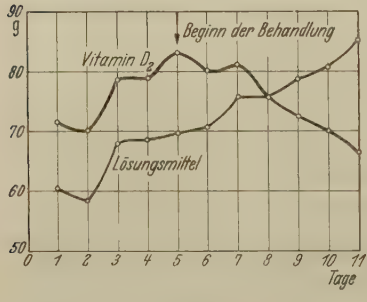


Abb. 1.

Als Versuchstiere dienten junge männliche Ratten mit einem Anfangsgewicht von ungefähr 60—70 g. In einer 8tägigen Vorperiode wurden alle Tiere ausgemerzt, die nicht kontinuierlich bei dem dargereichten Futter an Gewicht zunahmen oder irgendwelche Erkrankungserscheinungen boten. Zwei Gruppen zu je 8 Tieren wurden gebildet. Die Tiere saßen zu je 4 in geräumigen Käfigen. Vom 5. Tag des Versuchs an erhielten die Tiere der ersten Gruppe täglich je 0,9 mg eines D_2-Konzentrats in 1 ccm, die Tiere der zweiten Gruppe je 1 ccm des für das Präparat gebrauchten Lösungsmittels*. Das Öl wurde den Tieren mittels der Schlundsonde nüchtern im Anschluß an die tägliche Wägung morgens gegeben. Am Ende der Versuchszeit wurden Schilddrüse und HVL in der in der früheren Veröffentlichung beschriebenen Weise untersucht.

In Abb. 1 ist die aus den Mittelwerten berechnete Gewichtskurve der beiden Versuchsgruppen wiedergegeben. Es ist deutlich zu erkennen, daß die Fütterung des Lösungsmittels keinen hemmenden Einfluß auf das Gedeihen der Tiere ausübt, während bereits kurze Zeit nach Gabe des Vitaminkonzentrats ein Gewichtssturz eintritt. Das Fell der Ratten wurde

[1] Schulze, E., u. M. Flach: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 727 (1939) (hier auch die Literatur angegeben).

* Für die Überlassung des D_2-Konzentrats und des Lösungsmittels bin ich der Firma Merck, Darmstadt, zu besonderem Dank verpflichtet.

dabei struppig und glanzlos. Die Freßlust sank, die Tiere verloren ihre sonstige Beweglichkeit, bei einigen wurde gegen Schluß Durchfall beobachtet. Diese Symptome, die bereits am 5. Tag bei allen Tieren mehr oder minder deutlich auftraten, müssen bei der Anlage des Versuchs auf die toxische Wirkung der großen D_2-Dosen bezogen werden. Ihr Auftreten bezeichnete den Zeitpunkt, zu dem eine D-Hypervitaminose angenommen werden konnte. Am 6. (bzw. 7.) Tag wurde der Übertragungsversuch durchgeführt. Der Befund von Schilddrüsen und Hypophysen (und auch das Ergebnis der Wägung der Nebennieren) werden für die beiden Gruppen in den Tabellen 1 und 2 mitgeteilt. Aus den Tabellen geht hervor, daß sich

Tabelle 1. Versuchsgruppe 1.

Ratte Nr.	Anfangs-Körpergewicht in g	End-Körpergewicht in g	Gewicht der Nn. in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüse	Gewicht der Schilddrüse in mg	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen, dem die beiden vorstehenden Hypophysen übertragen wurden	Tätigkeitszustand der Schilddrüse dieses Tieres	Gewicht der Schilddrüse in mg
1	69	63	34	III/IV	12	4	Ms 92	s	48
8	82	81	33	IV	14	5			
2	90	74	45	IV	11	4,5	Ms 94	s/(t)	43
7	58	53	31	III	11	4			
3	61	57	39	IV	13	5	Ms 90	s/(t)	39
9	52	48	27	IV	12	5,5			
4	90	98	32	III/IV	10,5	5	Ms 91	s	41
5	73	61	38	IV	11	5			

Tabelle 2. Versuchsgruppe 2.

Ratte Nr.	Anfangs-Körpergewicht in g	End-Körpergewicht in g	Gewicht der Nn. in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüse	Gewicht der Schilddrüse in mg	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen, dem die beiden vorstehenden Hypophysen übertragen wurden	Tätigkeitszustand der Schilddrüse dieses Tieres	Gewicht der Schilddrüse in mg
10	56	80	35	III	15	5	Ms 96	s/t	48
15	60	86	36	IV	16	5,5			
11	59	79	40	III	16	5	Ms 95	s/(t)	42
16	60	89	38	III	13	5			
12	62	92	42	III	17	6	Ms 98	s/t	49
17	58	80	33	II/III	16	6			
13	61	89	39	III	13	6	Ms 97	s	36
14	70	98	36	III/IV	14	4			

die Schilddrüsen der Kontrollgruppe bei der histologischen Auswertung im Mittel der Stufe III entsprechend verhalten. Die Follikel der Schilddrüsen sind mittelgroß. Das Epithel ist kubisch, ein (niedriger) Plasmasaum zwischen dem meist runden Kern und der Zellgrenze zum Follikel findet

sich fast regelmäßig. Das Kolloid ist kräftig eosinophil gefärbt, zum Teil leicht vakuolisiert. Demgegenüber zeigen die Schilddrüsen der mit Vitamin D_2 gefütterten Ratten eine leichte Tendenz zur inaktiven Seite (Mittelwert 3,7): die Follikel sind meist klein, das Epithel ist eine Spur niedriger, der Kern oval. Ein Plasmasaum findet sich nur gelegentlich angedeutet. Das Kolloid ist intensiver eosinophil. Vakuolen nur selten.

Der Gehalt des den jeweiligen Schilddrüsen zugehörigen HVL an thyreotropem Hormon wurde mittels der Übertragungsmethode (1) histologisch am Test der infantilen Meerschweinchenschilddrüse bestimmt. Er ist nicht nur bei den Tieren der Kontrollgruppe, sondern auch bei den mit Vitamin D_2 gefütterten Ratten normal.

Neben der histologischen Auswertung der Schilddrüsen wurden die Gewichte von Schilddrüsen, Hypophysen und Nebennieren der beiden Versuchsgruppen bestimmt. Eine Übersicht der gefundenen Werte geben Tabelle 3 und 4. Es sind darin die Mittelwerte jeder Versuchsgruppe

Tabelle 3.

Organgewichte der Ratten in mg (Mittelwerte) (Grenzen ± — doppelter mittlerer Fehler).

Behandlung der Ratten	Schilddrüsengewicht	Tätigkeitszustand der Schilddrüse	Hypophysengewicht	Nebennierengewicht
Versuchsgruppe 1 ..... Vitamin D-Tiere.....	11,8 (± 0,84)	3,70	4,7 (± 0,38)	34,8 (± 3,95)
Versuchsgruppe 2 ..... „Lösungsmittel"-Tiere.	15 (± 1,06)	3,01	5,3 (± 0,49)	37,3 (± 2,06)

Tabelle 4.

Gewichte von Meerschweinchenschilddrüsen in mg nach Übertragung von Rattenhypophysen (Mittelwerte).

Behandlung der Spendertiere	Schilddrüsengewicht	Tätigkeitszustand der Schilddrüse
Versuchsgruppe 1 ..... Vitamin D-Tiere.....	42,7 (± 3,86)	s
Versuchsgruppe 2 ..... „Lösungsmittel"-Tiere.....	43,6 (± 6,02)	s/(t)

eingetragen. Die Grenzen (±) geben den doppelten mittleren Fehler an. Unterschiede, die mehr als das Doppelte des mittleren Fehlers betragen, sind signifikant. Das Ergebnis der Wägungen entspricht dem histologischen Befund. Ein signifikanter Unterschied besteht nur zwischen den Gewichten der Rattenschilddrüsen: Bei D-Hypervitaminose findet sich ein geringeres Schilddrüsengewicht als bei den Tieren der Kontrollgruppe. Die Hypophysengewichte, die Meerschweinchenschilddrüsengewichte (ebenso auch die Nebennierengewichte) sind praktisch gleich.

Die Versuche zeigen, daß bei D-Hypervitaminose eine geringfügige Ruhigstellung der Schilddrüsen eintritt, die nicht auf Verminderung der thyreotropen Wirksamkeit des HVL zu beziehen ist. Dieser Befund ergänzt die früher gemachte Feststellung, daß bei Vitamin D-Mangel eine leichte, nicht hypophysär bedingte Aktivierung der Schilddrüse beobachtet wird. Die Möglichkeit einer unmittelbaren Einwirkung des Vitamins auf die Drüse ist gegeben. Die früher hierzu gemachten Ausführungen[1] finden durch die jetzt erhobenen Befunde eine weitere Bestätigung.

Zusammenfassung.

1. Vitamin D-Zufuhr gibt der Rattenschilddrüse eine Tendenz zur Inaktivierung.

2. Der Gehalt des HVL an thyreotropem Hormon ist dabei unverändert.

Es wird daraus auf eine unmittelbare Hemmung der Schilddrüsentätigkeit unter Umgehung der thyreotropen Schaltstelle im HVL geschlossen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf.

Über den Einfluß ein- und doppelseitiger Abtragung der Großhirnrinde auf die Wirkungsstärke einiger pupillenerweiternder Mittel*.

Von

O. Girndt und **A. Evers.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. April 1940.)

Schon die klassischen Versuche von Goltz (1) an seinem Hunde ohne Großhirn haben ergeben, daß dem Cortex eine entscheidende Bedeutung für den geordneten Ablauf der vegetativen Funktionen nicht zukommt. Zwar steht fest, daß die Tätigkeit verschiedener sympathischer und parasympathischer Apparate von der Hirnrinde aus beeinflußt werden kann (2). Die darauf aufbauenden Versuche einer kortikalen Lokalisation autonomer Funktionen haben jedoch die Existenz vegetativer Rindenzentren nicht überzeugend dartun können (3). Auch ist es bisher nicht gelungen, die Frage, wann und in welcher Weise das Großhirn in das vegetative Geschehen eingreift, befriedigend zu beantworten (2, 4).

Trotzdem ist von manchen Pharmakologen [E. P. Pick, E. Starkenstein (5—7)] immer wieder behauptet worden, daß in der Hirnrinde „tonische Hemmungsapaparate" für die vegetativen Hirnstammzentren vorhanden seien, deren anatomische oder pharmakologische Ausschaltung (z. B. durch bestimmte Narkotica) eine als Enthemmungserscheinung aufgefaßte Erregung bzw. Erregbarkeitssteigerung autonomer Funktionen zur Folge habe. So wird z. B. die Verengerung der Pupille unter Morphin, im Hinblick auf die vorzugsweise kortikale Wirkung dieses Alkaloids, als Ausdruck einer Enthemmung des Oculomotorius-Zentrums im Hirnstamm infolge Lähmung eines ihm übergeordneten Hemmungsapparates in der Hirnrinde gedeutet.

Versuche aus neuerer Zeit von Mettler und Culler (8) scheinen allerdings für eine solche Auffassung zu sprechen. In vergleichenden Untersuchungen an einem chronisch großhirnlosen und einem intakten Hunde stellten diese Autoren fest, daß die autonomen Funktionen (Atmung, Blutdruck, Herztätigkeit, Speichelsekretion, Blutzuckerspiegel, Pupillenweite) durch erregende und lähmende Gifte mit teils zentralen, teils peripheren Angriffsorten bei dem entrindeten Tier wesentlich rascher, stärker und anhaltender beeinflußt wurden als bei dem normalen.

* D 12.

Die Beweiskraft dieser Versuche leidet jedoch darunter, daß sie nur an je einem Tier und dazu reichlich summarisch durchgeführt worden sind. Die von Mettler und Culler (8) behauptete allgemeine pharmakologische Überempfindlichkeit der vegetativen Funktionen beim großhirnlosen Tier scheint uns daher durch ihre Befunde nicht hinreichend erwiesen zu sein*. Wir haben deshalb die Wirksamkeit verschiedener (teils zentral, teils peripher angreifender) vegetativer Gifte auf die Pupillenweite an intakten, halb- und beiderseitig chronisch großhirnlosen Katzen vergleichend geprüft. Wir wählten die Motorik der Iris als Testfunktion, weil die Pupillenweite einen sehr empfindlichen Indikator für die jeweilige „Tonuslage" im vegetativen Nervensystem darstellt und einer fortlaufenden Beobachtung leicht zugänglich ist.

Die Versuchstiere und die an ihnen vorgenommenen Operationen.

Als Versuchstiere dienten Katzen**. Die Auswahl der zu operierenden Tiere wurde nach den von O. Girndt und H. Lempke (10) erprobten Gesichtspunkten, die Abtragung der Großhirnhemisphären (Neocortex) nach dem von ihnen eingehend beschriebenen Verfahren durchgeführt. Mit Rücksicht auf die postoperativen Schockwirkungen, die bei der Katze auch eine (vorübergehende) Ungleichheit der Pupillen hervorrufen, wurde mit den Versuchen an den ein- bzw. doppelseitig entrindeten Tieren frühestens $1^1/_2-2$ Monate nach dem letzten Eingriff begonnen***.

Die ein- bzw. beiderseitige operative Ausschaltung der Nickhaut wurde möglichst schonend (d. h. nach vorheriger gründlicher Cocainisierung des Auges, in späteren Versuchen in tiefer Äthernarkose) vorgenommen†.

Die Lebensbedingungen (Ernährung, Unterbringung) waren bei den normalen und den gehirnoperierten Tieren die gleichen.

---

* Auch die animalischen Hirnstammfunktionen sollen nach Mettler und Culler (8) durch Abtragung der Hirnrinde gegenüber narkotischen Mitteln deutlich empfindlicher werden. Diese Meinung stützt sich ebenfalls auf je einen Versuch mit Paraldehyd, Alkohol, Morphin und Scopolamin an dem obenerwähnten Hunde ohne Großhirn. Die Erfahrungen von Fr. Koch (9) im hiesigen Institut an 3 chronisch großhirnlosen und 5 normalen Katzen mit Urethan (0,5 g/kg subcutan) ergaben demgegenüber bei Prüfung der Narkosetiefe mit Hilfe der Körperstell- und Labyrinthreflexe und unter Berücksichtigung der normalen Streuungsbreite der Narkoticumdosis bei den entrindeten Tieren die gleichen Narkosewerte sowohl hinsichtlich der Tiefe wie der Dauer der Schlafmittelwirkung.

** Sie sind für vergleichende Versuche am Auge allein schon deshalb besser geeignet als Hunde, weil Augäpfel und Regenbogenhaut der ausgewachsenen Katzen keine nennenswerten Größenunterschiede von Tier zu Tier aufweisen.

*** Nach den Erfahrungen von Girndt und Lempke (10) dauert es etwa 8 Wochen, bis die Schockerscheinungen bei beiderseits großhirnlosen Katzen völlig abgeklungen sind.

† Die Entfernung der Nickhaut erwies sich bei allen Katzen als notwendig, weil sie bei starkem Lichteinfall ins Auge (s. Abschnitt „Technik und Methodik", S. 282) vor die Pupille gezogen und dadurch eine Feststellung ihrer Weite behindert oder sogar unmöglich wird.

Die Pharmaca.

Die Innervation der Regenbogenhaut durch beide Teile des autonomen Nervensystems gestattet bekanntlich eine pharmakologische Beeinflussung der Pupillenweite sowohl vom Parasympathicus wie vom Sympathicus aus, wobei — je nach dem Mittel — als Angriffsort die Zentren der Pupillomotorik (vegetativer Oculomotoriuskern, Dilatatorzentrum im Zwischenhirn) oder die nervösen Endapparate im Erfolgsorgan bzw. beide in Betracht kommen*. Entsprechend diesen verschiedenen Möglichkeiten zur pharmakologischen Auslösung einer Mydriasis vom Nervensystem aus haben wir unsere Versuche mit Substanzen durchgeführt, von denen die eine (Atropin) ausschließlich peripher, die zweite (Morphin) rein zentral und schließlich die dritte (l-Pseudo-Ephedrin) peripher und zentral angreift. Die Auswahl dieser Stoffe gab zugleich die Möglichkeit, die Frage der „kortikalen Hemmungsapparate" der Pupillenweite für beide Innervationen der Iris zu untersuchen, da l-Pseudo-Ephedrin und (bei der Katze) auch Morphin, im Gegensatz zum Atropin, Sympathicusgifte sind**.

Die Zufuhr der drei Pharmaca erfolgte stets subcutan (unter die Nackenhaut) und zwar wurde Atropin in Form des schwefelsauren Salzes als 0,2%ige, Morphin und l-Pseudo-Ephedrin (beide als salzsaure Salze) in 0,4- bzw. 1—2%iger Lösung angewandt***.

Technik und Methodik der Bestimmung der Pupillenweite.

Die Pupillenweite der Katze unterliegt bekanntlich nicht nur Licht-, sondern auch (in hohem Maße) psychischen Einflüssen. Um letztere aus-

---

* Die weitere Möglichkeit der pharmakologischen Beeinflussung der Pupillenweite von den Umschaltganglien aus soll hier unberücksichtigt bleiben, weil sie außerhalb unserer Fragestellung liegt.

** Im Hinblick auf die mydriatische Wirkung unserer Pharmaca sind die eingehenden Untersuchungen von Poos (11) von Interesse, aus denen hervorgeht, daß das Pupillenspiel nicht von einem einfachen Antagonismus zwischen „parasympathisch innerviertem" Sphincter und „sympathisch innervierten" Dilatator iridis beherrscht wird; denn auch der Ringmuskel der Regenbogenhaut unterliegt nach Poos einer (tonushemmenden) sympathischen und somit doppelten Innervation. Die Mydriasis kommt demnach nicht dadurch zustande, daß der (schwache) Dilatator den Tonus des (stärkeren) Sphincters überwindet; sie ist vielmehr die Folge einer gleichzeitig mit der Erregung des Dilatators einhergehenden sympathischen Tonushemmung des Ringmuskels. Nach Poos (12) ist es die jeweilige Tonuslage des Sphincters, die in erster Linie die Weite der Pupille bestimmt, während dem Dilatator vorwiegend die Aufgabe eines „Sperrmuskels" zufällt, der — vermöge seiner Sperrfunktion — die vom Sphincter eingestellte, den jeweiligen Licht- und Adaptationsverhältnissen entsprechende Pupillenweite (als Dauereinstellung) „fixiert". Auf die Pharmakologie der Regenbogenhaut angewandt wäre somit der Sphincter iridis auch für die durch Sympathicuserregung mydriatisch wirkenden Mittel der Hauptangriffspunkt am Auge.

*** Die lokale Applikation der Mittel in Form der Augentropfen erwies sich, ebenso wie die orale Zufuhr, als zu unsicher sowohl hinsichtlich der Stärke wie des zeitlichen Ablaufs der Wirkung. Auch die intravenöse Zufuhr (Beinvene) war ungeeignet, da die dafür erforderlichen Maßnahmen (Fixieren des Tieres, Enthaaren der Haut über der Vene) die Tiere sehr stark und nachhaltig erregten.

zuschalten und von Tageszeit und Standort unabhängige konstante Belichtungsverhältnisse zu schaffen, wurden die Augen der während des Versuchs im Katzenkasten* gehaltenen Tiere dem Lichtkegel von zwei Nitraphot-B-Lampen (220 Volt, 500 h 26) ausgesetzt, die mit silberbronzierten Reflektoren versehen waren. Abstand und Einfallswinkel der in Augenhöhe aufgestellten Lichtquellen waren in allen Versuchen die gleichen (50 cm, 45°). Die intensive Leuchtkraft der beiden 500 Watt-Lampen bewirkt bei so geringer Entfernung am pharmakologisch nicht beeinflußten Auge eine durch psychische Einflüsse nicht mehr durchbrechbare maximale Pupillenverengerung, die auch durch etwaige Schwankungen im Stromnetz keine Einbuße erleidet. Dagegen gelingt es unter diesen Versuchsbedingungen leicht und sicher, eine je nach dem Mittel und der Dosis verschieden starke bis maximale Mydriasis hervorzurufen.

Zur Bestimmung der jeweiligen Pupillenerweiterung haben wir eine photographische Methode ausgearbeitet, deren Prinzip und Handhabung im folgenden beschrieben werden soll:

Als Aufnahmeapparat diente eine Contax II (Kleinbildkamera für Filme mit 32—36 Aufnahmen, Objektiv: Zeiss Biotar 1 : 2) mit gekuppeltem optischem Naheinstellgerät (Contameter) für feste Entfernungen (20 cm) und der zugehörigen Vorsatzlinse. Bei der Einstellung wird die auf einem Dreifußstativ angebrachte Kamera so lange auf das Aufnahmeobjekt (die Iris des Versuchstieres) zu bewegt, bis sich die beiden Teilbilder desselben im Blickfeld des Einstellgeräts decken. Die Vorderseite der Vorsatzlinse befindet sich dann genau 20 cm vor dem Objekt (Iris). Schon bei Abweichungen von nur 2 mm von dieser Entfernung kommen die Teilbilder im Contameter nicht mehr zur Deckung. Nach Einschalten der Lichtquellen (s. oben) wurden im Vorversuch zunächst mehrere Aufnahmen von dem pharmakologisch nicht-beeinflußten Auge bzw. beiden Augen und, nach Applikation der Versuchslösung fortlaufend, in Abständen von etwa 10 Minuten, je eine weitere Aufnahme gemacht**. Die Versuchsdauer betrug in der Regel $2^1/_2$ Stunden***. Die starken Lichtquellen, mit denen wir arbeiteten, ermöglichen gute und gleichmäßig belichtete Bilder der Augen bei kurzer Belichtungszeit ($^1/_{25}$ sec) und mit kleiner Blende (8—11).

Nach Entwicklung des Filmstreifens wurden mit Hilfe eines Vergrößerungsapparates für Kleinbildaufnahmen von jedem Bilde Abzüge hergestellt unter Innehaltung eines bestimmten, stets gleichen Vergrößerungsverhältnisses und Bildausschnittes (Augenpartie der Tiere). Diese Vergrößerungen wurden zur Auswertung der Befunde, nach der Aufnahmezeit geordnet, untereinander auf Papier aufgeklebt und anschließend auf jedem Bild mit Hilfe eines, mit Nonius versehenen Stechzirkels der größte quere Durchmesser des Sehloches ermittelt. Die so erhaltenen Werte wurden in ein Koordinatensystem eingezeichnet, auf dessen Abszisse die Zeit in Minuten (gemessen vom Zeitpunkt der Applikation des Pharmakons an), auf dessen Ordinate die Pupillenweite in mm eingetragen war (s. Abb. 1—3).

* Beschreibung und Abbildung eines solchen Katzenkastens s. G. Schaltenbrand u. O. Girndt, Pflügers Arch. **209**, 377 (1925).

** Zur Vermeidung einer Ermüdung der Irismuskeln wurden die Nitraphot-Lampen nach jeder Aufnahme aus- und erst 1—2 Minuten vor der nächsten Aufnahme erneut eingeschaltet.

*** Eine weitere Beobachtung erübrigte sich, weil die mydriatische Wirkung meist schon viel früher ihr jeweiliges Maximum erreicht und die Irismuskeln sich auf ein annähernd gleichbleibendes Tonusniveau eingestellt hatten.

Nach dem Gesagten erhält man mit unserer photographischen Methode keine wahren, sondern nur relative Werte der Pupillenweite. Die Bestimmung der letzteren genügt aber für vergleichende Versuche, wie die unsrigen, da die durch den Gang des Verfahrens bedingte Vergrößerung der natürlichen Verhältnisse am Auge in allen Versuchen die gleiche ist*. Die so erhaltenen Pupillenweiten bei intakten und gehirnoperierten Tieren lassen sich also unmittelbar vergleichen. Gegenüber der Ermittlung der Pupillenweite durch Abmessen am Auge des Tieres oder des auf eine Mattscheibe projizierten Augenbildes während des Versuchs hat unsere Methode — außer ihrer Einfachheit — u. E. den Vorzug größerer Genauigkeit, einmal wegen der Kleinheit des nur auf der (bei Katzen) stark gewölbten Kornea abzumessenden Objektes, zum anderen wegen der fast ständigen Bewegungsunruhe der Augäpfel der im Versuch befindlichen Tiere. Beides kann grobe Meßfehler verursachen, Nachteile, die bei einem optischen Verfahren, das mit Momentaufnahmen arbeitet, wegfallen. Ein weiterer Vorteil ist die Möglichkeit, die Ermittlung der Augenbefunde nachträglich und in aller Ruhe am stark vergrößerten Bilde des Auges vornehmen zu können**.

Experimenteller Teil.

Vorversuche.

Um Abweichungen in der Wirkungsstätte der Pharmaca bei intakten und großhirnlosen Tieren feststellen zu können, mußten diese in Dosen angewandt werden, die bei den normalen Katzen unter unseren Versuchsbedingungen (intensive Belichtung der Augen) eine Pupillenerweiterung mittleren Grades auslösen. Wir fanden, daß von Atropin. sulfuric. 0,1, von Morphin. hydrochloric. 0,6 und von l-Pseudo-Ephedrin 40 mg/kg bei intakten Tieren die gewünschte Wirkung entfalten.

I. Versuche mit Atropin.

Mit 0,1 mg/kg Atropin. sulfuric. wurden an 6 normalen Katzen 7, an 4 halbseitig großhirnlosen Tieren 9 und an 3 beiderseits entrindeten Katzen insgesamt 5 Versuche durchgeführt und die Augenbefunde in der oben beschriebenen Weise ausgewertet. Aus Gründen der Raumersparnis und besseren Übersichtlichkeit der Ergebnisse verzichten wir,

* Man kann aber mit dieser Methode auch die natürliche Pupillenweite auf einfache Weise ermitteln. Es ist dazu nur notwendig, den wahren Durchmesser der Iris am Auge des Tieres zu bestimmen. Kennt man diesen, so kann man aus dem Größenverhältnis der wirklichen und der auf der Bildvergrößerung gemessenen Irisbreite mit Hilfe des ebenfalls bekannten größten Querdurchmessers der Pupille des vergrößerten Bildes die wahre Pupillenweite ohne weiteres errechnen.

** Strüver hat in seiner inzwischen erschienenen Dissertationsschrift „Die Wirkung des Follikelhormons auf das vegetative Nervensystem" mit unserer photographischen Methode gleichfalls gute Erfahrungen gemacht.

wie auch in den noch später zu besprechenden Versuchen, auf die graphische Wiedergabe jedes einzelnen Experiments und bringen – in Abb. 1 — nur die Kurve der mittleren Wirksamkeit von 0,1 mg/kg Atropin bei normalen (*A*), einseitig großhirnlosen (*B*) und beiderseits entrindeten Katzen (*C*).

Der Vergleich der 3 Kurven zeigt deutlich, daß Atropin bei den gehirnoperierten Tieren eine ungleich stärkere mydriatische Wirkung besitzt als bei den intakten, trotz annähernd gleicher (mittlerer) Ausgangsweite. Diese größere Wirksamkeit des Alkaloids am Auge ist besonders stark bei den beiderseits rindenlosen Tieren ausgeprägt (vgl. Kurve *A* und *C*).

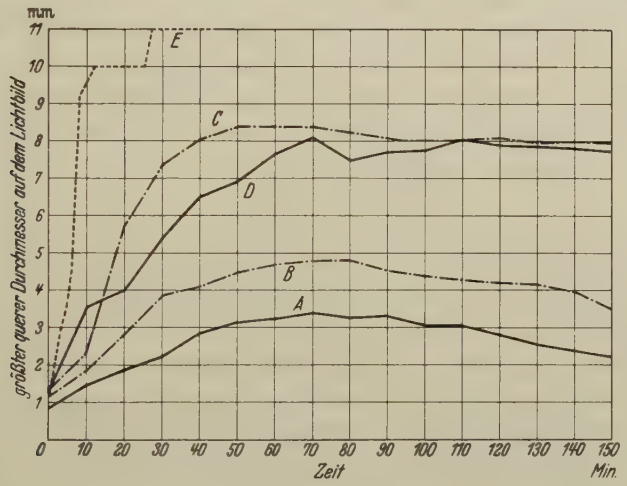


Abb. 1.

Die bei ihnen erzielte Mydriasis entspricht etwa der Wirkung von 0,2 mg/kg Atropin bei den intakten Katzen (Kurve *D*) sowohl in ihrem Ausmaß wie hinsichtlich der Schnelligkeit, mit der sie ihr Maximum erreicht. Der Vergleich von Kurve *A* und *C* ergibt weiterhin, daß 0,1 mg/kg Atropin bei den beiderseitig großhirnlosen Tieren eine ungefähr doppelt so starke (mittlere) Pupillenerweiterung auslöste wie bei den normalen.

Danach war auch für 0,2 mg/kg Atropin bei den zweiseitig entrindeten Tieren ein stärkerer mydriatischer Effekt zu erwarten als bei den intakten Kontrollen. Ein mit dieser Dosis an einer der 3 großhirnlosen Katzen durchgeführter Versuch bestätigte diese Vermutung (Abb. 1, Kurve *E*). Er ist auch deshalb bemerkenswert, weil das Wirkungsmaximum ungemein rasch, nämlich bereits nach 27 Min., erreicht wurde, während bei den mit der gleichen Dosis behandelten Normaltieren etwa die doppelte Zeit (im

Mittel etwa 50 Min.) bis zum Eintritt der maximalen Pupillenerweiterung verstrich (Abb. 1, Kurve *D*)*.

Wie schon eingangs erwähnt wurde (S. 281), hat die einseitige Entfernung der Großhirnrinde ziemlich regelmäßig Pupillenungleichheit zur Folge, die wohl als Schockerscheinung zu werten ist, weil sie im Verlauf des postoperativen Lebens allmählich verschwindet. Sie war daher bei unseren chronisch entrindeten Katzen in der Versuchszeit nicht mehr vorhanden. Immerhin war es denkbar, daß der Verlust der einen Großhirnhälfte eine bleibende oder doch über das Schockstadium hinaus anhaltende unterschiedliche Empfindlichkeit der Regenbogenhaut des linken und rechten Auges gegenüber mydriatisch wirkenden Mitteln zurückließ. Wir haben deshalb dieser Frage besondere Aufmerksamkeit geschenkt, fanden aber nur bei einer der 4 halbseitig entrindeten Katzen diese Vermutung bestätigt. Bei den 3 übrigen Tieren dagegen war, auch in wiederholten Versuchen, die Pupillenerweiterung unter Atropin an beiden Augen entweder die gleiche oder, sofern Unterschiede bestanden, waren diese nicht größer als die bei intakten Katzen beobachteten.

II. Versuche mit Morphin.

Daß Morphin bei der Katze, abweichend von seiner Wirkung beim Menschen, eine Erweiterung der Pupille auslöst, ist seit langem bekannt. Sie wurde als Teilerscheinung der psychomotorischen Erregung aufgefaßt, die das Wirkungsbild größerer Morphingaben bei Katzen beherrscht. Diese Ansicht ist jedoch unzutreffend, denn wie der eine von uns in gemeinsamen Versuchen mit H. Lempke (13) zeigen konnte, entfaltet Morphin seine pupillenerweiternde Wirkung bei dieser Tierart bereits in rein sedativ wirkenden Gaben**.

Im Gegensatz zur Atropinmydriasis ist die Pupillenerweiterung unter Morphin Ausdruck einer zentralen Sympathicusreizung. Der Angriffsort ist nach Mintscheff (14) das im Zwischenhirn gelegene Corpus Luysi, das nach den Untersuchungen von Schinosake und Testishiro (15) ein Zentrum der sympathischen Innervation des Auges darstellt (Versuche an Katzen).

E. P. Pick (5) behauptet demgegenüber, in Anlehnung an die Auffassung Braunsteins (20), nach der die Morphin-Miosis durch Lähmung eines kortikalen

---

* Von einer Wiederholung des Versuchs mit 0,2 mg/kg Atropin. sulfuric. an großhirnlosen Katzen nahmen wir Abstand, weil bei dem damit behandelten beiderseits entrindeten Tier schon etwa 40 Min. nach Versuchsbeginn auswertbare Aufnahmen der Augen nicht mehr erzielt werden konnten. Es entwickelte sich nämlich ein so starkes Ektropion der Augenlider, daß nur noch ein kleiner, unzureichender Abschnitt der Pupille sichtbar gemacht werden konnte.

** Diese Gaben (0,1 bis höchstens 1 mg/kg) liegen weit unterhalb der üblichen, „Morphinerregung" auslösenden Dosen (10—20 mg/kg) und entsprechen in ihrer Wirkung und Größenordnung annähernd den beim Menschen therapeutisch angewandten.

Hemmungszentrums des Oculomotorius hervorgerufen wird, daß auch die mydriatische Wirkung des Morphins bei der Katze rindenbedingt und Ausdruck einer Erregung jenes (hypothetischen) kortikalen Hemmungszentrums für den 3. Hirnnerven sei. Gegen diese Auffassung spricht aber die Erfahrung von Girndt und Lempke (13), daß sich die Morphin-Mydriasis regelmäßig und in gleicher Stärke wie an normalen auch an beiderseits großhirnlosen Katzen auslösen läßt, eine Feststellung, die wir ebenfalls machen konnten (s. Abb. 2).

Über die pupillomotorische Wirkung des Morphins in Gaben von 0,6 mg/kg bei intakten, ein- und beiderseits entrindeten Tieren geben die Kurven der Abb. 2 Aufschluß. Kurve *A* stellt das Mittel aus 6 Versuchen an 4 normalen, Kurve *B* das Mittel aus 3 Versuchen an 3 rechtsseitig-großhirnlosen Katzen dar. Kurve *C* schließlich gibt die Mittelwerte der Pupillenweite aus 2 Versuchen an beiderseits entrindeten Tieren wieder. Wie man sieht, zeigt die dilatatorische Wirkung des Morphins bei den ein-

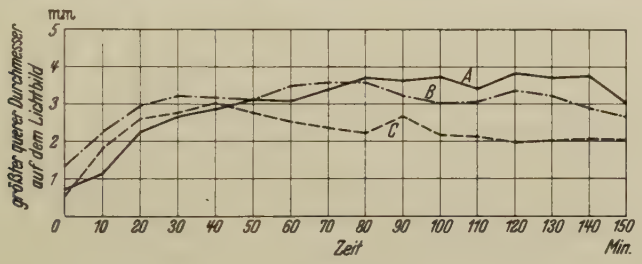


Abb. 2.

seitig großhirnlosen Katzen (Kurve *B*) den gleichen Verlauf wie bei den normalen Vergleichstieren (Kurve *A*) sowohl hinsichtlich der jeweils erreichten größten (mittleren) Pupillenweite wie hinsichtlich der Schnelligkeit ihres Eintritts. Auch die (mittlere) Kurve der beiderseits entrindeten Tiere (*C*) stimmt in ihrem Anfangsteil mit der mittleren Normalkurve (*A*) völlig überein; sie erreicht aber im weiteren Verlauf nicht ganz deren Höhe und zeigt weiterhin eine leicht fallende Tendenz. Wir halten jedoch diese Abweichungen nicht für so bedeutend, daß daraus ein Wirkungsunterschied des Morphins bei Tieren mit und ohne Großhirn abgeleitet werden könnte; denn — wie der Vergleich der einzelnen Versuche untereinander ergibt — liegen die bei den entrindeten Katzen gewonnenen Höchstwerte innerhalb der Streuungsbreite der an den intakten Tieren gewonnenen. So wurden die Pupillen von zwei normalen Vergleichskatzen nur von 0,5 bzw. 0,6 mm auf 3,0 bzw. 3,2 mm (beiderseits) erweitert*. Bei einem Normaltier war der mydriatische Effekt mit einer erst 110 Min. nach der Injektion eintretenden maximalen Pupillenerweiterung um 2,4 mm, als Ganzes betrachtet, sogar deutlich geringer als bei den beiderseitig entrindeten Katzen.

* Diese und die anschließend angeführten Werte beziehen sich nach dem oben (S. 283) Gesagten auf die Pupillenweite der Lichtbilder.

III. Versuche mit l-Pseudo-Ephedrin.

l-Pseudo-Ephedrin wirkt am Auge, wie Adrenalin, als Sympathicusreizmittel. Im Gegensatz zu diesem ist aber die mydriatische Wirkung des l-Pseudo-Ephedrins zum Teil zentrogen bedingt (Erregung des Dilatatorzentrums im Zwischenhirn); sie läßt sich nämlich auch nach Ausschaltung des Halssympathicus noch auslösen*.

Die Durchprüfung des l-Pseudo-Ephedrins in Gaben von 40 mg/kg des salzsauren Salzes erfolgte an 3 normalen, 4 halbseitig und 1 beiderseits großhirnlosen Katzen in 4, 6 bzw. 2 Versuchen**. Die Ergebnisse sind, wiederum unter Zugrundelegen der jeweiligen mittleren Werte, in Abb. 3 graphisch dargestellt.

Bemerkenswert ist vor allem die weitgehende Übereinstimmung der Augenbefunde bei den normalen und den beiderseits großhirnlosen Katzen

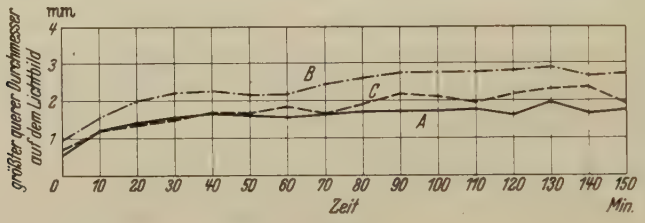


Abb. 3.

(Kurve *A* und *C*). Die Wirkungskurve der nur einseitig entrindeten Tiere liegt mit einem Maximalwert von 2,85 mm im ganzen höher als die der normalen Vergleichskatzen (1,95 mm). Dabei ist jedoch die bei ersteren größere mittlere Ausgangsweite der Pupillen zu berücksichtigen (0,95 mm gegenüber 0,55 mm bei den normalen Tieren). Die Betrachtung der einzelnen Versuche dieser beiden Gruppen zeigt nämlich, daß die höchsten Werte unter l-Pseudo-Ephedrin fast ausnahmslos auf jene einseitig entrindeten Katzen entfallen, deren Pupillenweite bereits vor Anwendung des Pharmakons eine deutlich größere war als die der übrigen und damit auch der normalen Tiere (1,1—1,5 mm gegenüber 0,5—0,6 mm). Der höhere Verlauf der Kurve *B* ist also, wenn überhaupt, nur zum Teil Ausdruck einer stärkeren mydriatischen Wirksamkeit des l-Pseudo-Ephedrins bei den einseitig operierten Tieren.

IV. Sonstige Beobachtungen.

Bei der engen Verknüpfung vegetativer und psychischer Vorgänge ist es nicht verwunderlich, daß zentral angreifende Gifte des autonomen

* Literatur s. Trendelenburg: Heffters Handb. exper. Pharmakol. **2**, 2. H., dort S. 1279ff.

** Für die Überlassung der erforderlichen Menge von l-Pseudo-Ephedrin sprechen wir an dieser Stelle den Chem. Fabriken E. Merck, Darmstadt unseren besten Dank aus.

Nervensystems, wenn auch ausgesprochen beim Tier meist erst nach hohen Gaben, psychomotorische Veränderungen mannigfacher Art auslösen. Das wohl bekannteste Beispiel psychischer Beeinflussung durch Pharmaca beim Tier ist die bei Katzen nach großen Morphingaben auftretende extreme Bewegungsunruhe verbunden mit Schreckhaftigkeit und völliger Unansprechbarkeit der Tiere. Sie wurde und wird auch jetzt noch von mancher Seite [E. Starkenstein (16, 17)], ebenso wie die durch Atropin, Cocain (und andere Sympathicusreizmittel) auslösbaren psychomotorischen Erregungszustände intakter Katzen als Enthemmungserscheinungen halluzinatorischen Charakters angesprochen. Dieser Auffassung steht aber unsere bereits an anderer Stelle (13) mitgeteilte Erfahrung entgegen, daß höhere Morphingaben das gleiche Vergiftungsbild (extreme Unruhe, Hasch- und Duckbewegungen, Schleichgang usw.) regelmäßig auch an beiderseits großhirnlosen Tieren auslösen. Die „Morphinerregung" der Katze kann daher nicht als rindenbedingte (halluzinatorische) Störung aufgefaßt werden; sie muß vielmehr auf einer unmittelbaren Wirkung des Morphins auf den Subkortex beruhen*.

In diesem Zusammenhang verdient eine Beobachtung an einer unserer beiderseits großhirnlosen Katzen während eines Atropinversuchs Interesse. Das sonst stets ausgesprochen bewegungsarme Tier wurde nämlich durch 0,1 mg/kg Atropin. sulfuric. in einen stundenlang anhaltenden Zustand hochgradiger psychomotorischer Erregung versetzt, der mit der Morphinexzitation großhirnloser Katzen weitgehende Übereinstimmung zeigte:

Großhirnlose Katze „Silberstreif", Versuch vom 10. III. 1938**. Im Vorversuch ist das Tier außerordentlich bewegungsarm und hält beim Sitzen den Kopf gewohnheitsgemäß gesenkt. Schnurrt weder spontan noch auf Kraulen. Auf Geräusche keine Adversivbewegungen oder nur geringes Wenden des Kopfes und Spitzen der Ohren.

17,15 Uhr: Injektion von 0,1 mg/kg Atropin subcutan.

Nach 30. Min.: Die Katze nimmt eine sitzende Haltung ein. Kopf und Vorderkörper sind jetzt aufgerichtet. Der Schwanz wird lebhaft hin und her bewegt. Hin und wieder macht sie lebhafte Leck- und Schluckbewegungen und schleudert dabei den Kopf nach oben. Anschließend läuft „Silberstreif" mit erhobenem Kopf und in gestraffter Haltung in mittelschneller Gangart einige Schritte vorwärts und setzt sich danach erneut nieder.

---

* Als Angriffsort kommt wohl das im Hypothalamus gelegene Zentrum des motorischen Haushalts [Schaltenbrand (18)] bzw. das im zentralen Höhlengrau befindliche „Zentrum der elementaren motorischen und psychischen Affektivität" [Lotmar (19)] in Betracht. Damit wird nicht ausgeschlossen, daß beim intakten Tier auch die Großhirnfunktionen während der „Morphinexzitation" unter dem Einfluß der Erregung des Subkortex (mittelbaren) Störungen unterliegen. — Für die unmotivierten Haschbewegungen der „Morphinkatze", die wohl in erster Linie zu der Annahme geführt haben, daß es sich bei der Exzitation um eine Halluzinose handele, hat übrigens Schaltenbrand (18) schon vor Jahren wegen ihres „choreatiformen" Charakters einen subkortikalen Angriffspunkt vermutet.

** 77 Tage nach Entfernung der zweiten Großhirnhälfte.

Dieser Vorgang wiederholt sich mehrmals. Während des Umherlaufens stößt die Katze eigentümliche „ärgerliche" Laute aus. Auf Kraulen starkes Anschmiegen des Kopfes*.

Nach 45 Min. läuft die Katze von neuem mehrmals spontan umher und führt dabei mit der rechten Vorderpfote wiederholt blitzschnell Haschbewegungen aus. Wischt sich kurze Zeit danach mehrmals mit einem oder beiden Vorderbeinen heftig über die Schnauze.

Nach 75 Min.: Die Bewegungsunruhe hat zugenommen. Die Katze läuft jetzt in großen Rechtskreisen in schneller Gangart umher und rennt mehrmals unabgebremst gegen Hindernisse an. Bleibt dann wieder plötzlich für Augenblicke, unter gleichzeitigem Spitzen der Ohren, stehen. Dabei ist die Geräuschbeachtung unverändert gering. Erneute Haschbewegungen mit dem rechten Vorderbein. Auf Kraulen des Kopfes starkes Anschmiegen (aber kein Schnurren). — Passiv erteilte Seitenlage wird blitzschnell korrigiert**. Anschließend läuft das Tier etwa eine halbe Stunde lang nahezu pausenlos im Zimmer umher.

Nach 150 Min.: Noch immer starke Bewegungsunruhe, jedoch jetzt ohne Lokomotion; selbst Schmerzreize vermögen das Tier nicht zu veranlassen, seinen Platz zu wechseln.

11. III. 1938. Vorm. „Silberstreif" zeigt heute wieder das gewohnte Verhalten: hochgradige Bewegungsarmut, stundenlanges Verharren am gleichen Fleck in Kauerstellung mit stark gesenktem Kopf. Auf Kraulen keinerlei Zuwendungsbewegungen. Passiv erteile Seitenlage wird nur langsam und verzögert korrigiert.

Aus diesem Versuch geht hervor, daß auch die Atropinerregung keine rein kortikale Erscheinung ist, sondern zum mindesten unter wesentlicher Mitbeteiligung subkortikaler psychomotorischer Apparate erfolgt***.

l-Pseudo-Ephedrin rief in den von uns angewandten Gaben (40 mg/kg) bei sämtlichen Tieren 30—50 Min. nach der Injektion Erbrechen hervor. Im übrigen schien es leicht sedativ zu wirken. Nur die oben (S. 289) erwähnte beiderseits entrindete Katze „Silberstreif" wurde durch dieses Präparat in einen Erregungszustand versetzt, der dem unter Atropin (s. o.) weitgehend ähnelte.

Besprechung der Versuchsergebnisse und Schlußfolgerungen.

Indem wir wieder zu der eingangs gestellten Frage zurückkehren, ob die Ausschaltung des Cortex zu einer Erhöhung der Ansprechbarkeit der

---

* Derartige Adversivbewegungen auf Kraulen waren bei dem Tier, abgesehen von den ersten Tagen nach der Zweitoperation, nicht mehr auszulösen.

** Normalerweise richtete sich die Katze nur langsam oder zunächst überhaupt nicht aus passiv erteilter Seitenlage auf.

*** Die sekretionshemmende Wirkung des Atropins rief bei sämtlichen Tieren infolge der Trockenheit in Mund und Rachen häufige, mehr oder minder angestrengte Schluckbewegungen hervor. Zwischen den normalen bzw. halbseitig großhirnlosen und den beiderseits entrindeten Katzen bestand insofern ein Unterschied im Verhalten, als letztere außerdem mit den Vorderpfoten heftige Wischbewegungen über Ohren und Gesicht ausführten und nicht selten unter Leckbewegungen den Kopf ruckartig zurückwarfen. — Bei den beiderseits großhirnlosen Katzen entwickelte sich ferner bereits nach 0,1 mg/kg Atropin (subcutan) regelmäßig ein Ektropion an beiden Augen, eine Erscheinung, die bei den normalen Katzen unter der gleichen Dosis höchstens andeutungsweise festzustellen war.

Pupillenreaktion auf parasympathische (Atropin) und sympathische Mydriatica (Morphin, l-Pseudo-Ephedrin) führt, stellen wir fest, daß nur das Atropin bei unseren ein- und beiderseitig großhirnlosen Katzen eine einwandfreie Wirkungssteigerung erkennen ließ: die bei ersteren mit 0,1 mg/kg des schwefelsauren Salzes erzielte Pupillenerweiterung entsprach derjenigen der doppelten Dosis bei den normalen Tieren (s. Abb. 1). Im Gegensatz dazu war der mydriatische Effekt des Morphins und Pseudo-Ephedrins bei den beiderseits rindenlosen Katzen der gleiche oder doch nahezu derselbe wie bei den intakten Kontrollen (s. Abb. 2 und 3). Soweit überhaupt Abweichungen im Verlauf der verschiedenen mittleren Wirkungskurven festzustellen sind, liegen diese im Bereich der normalen Streuung, oder sie ergeben sich aus höheren Ausgangswerten der Pupillenweite. Daraus folgt, daß nur das Atropin durch Abtragung des Großhirns eine Veränderung seiner Wirksamkeit erfährt, und zwar im Sinne einer Wirkungssteigerung.

Es erhebt sich damit die weitere Frage, ob diese an chronisch entrindeten Tieren erhaltenen Befunde mit der Lehre von der Existenz kortikaler Hemmungsapparate des Okulomotoriuskerns in Einklang zu bringen sind. Nach dieser Vorstellung steht der vegetative Teil des 3. Hirnnerven dauernd unter einem dämpfenden Einfluß der Hirnrinde. Wegfall dieses kortikalen Hemmungszentrums müßte also eine Verschiebung des tonischen Gleichgewichts zwischen dem pupillenverengenden Einfluß des Sphincterzentrums im Mittelhirn und dem im Zwischenhirn gelegenen pupillenerweiternden Dilatatorzentrum zu ungunsten des letzteren hervorrufen mit dem Ergebnis gegenüber der Norm verengter und mydriatischen Einflüssen weniger zugänglicher Pupillen bei entrindeten Tieren. Danach wäre zu erwarten, daß unsere Pharmaca bei den halb- und beiderseits großhirnlosen Katzen, im Hinblick auf die bei ihnen ungehemmte Auswirkung des pupillenverengenden Okulomotoriustonus eine geringere Mydriasis herbeiführen als bei den normalen Tieren. Nach unseren Befunden ist aber, sofern überhaupt quantitative Unterschiede in der pharmakologischen Pupillenreaktion bei den Katzen mit und ohne Großhirn vorhanden waren, das Gegenteil der Fall. Unsere Versuche sprechen daher nicht für, sondern gegen das ständige Vorhandensein eines kortikalen Hemmungseinflusses auf den Tonus des Okulomotoriuskerns.

Im Zusammenhang mit dieser Feststellung sei darauf hingewiesen, daß die Annahme eines tonisch tätigen Hemmungszentrums des Sphincter iridis in der Hirnrinde vor 46 Jahren ausgesprochen wurde [Braunstein (20)]. Seitdem haben sich aber unsere Kenntnisse vom Mechanismus der Pupillenmotorik und den sie beeinflussenden Faktoren wesentlich vertieft und geändert. Während man damals annahm (und nach dem damaligen Stand des Wissens wohl auch annehmen mußte), daß für die zentrale Regulierung der Pupillenweite seitens des Subcortex ausschließlich der Tonus des Okulomotorius und somit allein der Parasympathicus

maßgebend sei, wissen wir heute durch die Versuche von Karplus und Kreidl (21) am Zwischenhirn, daß die Pupillomotorik noch durch ein von ihnen entdecktes zweites, im Hypothalamus gelegenes sympathisches Zentrum gesteuert wird, dessen Erregung aktive Pupillenerweiterung bewirkt, d. h. das Pupillenspiel steht nicht nur peripher, sondern auch zentral unter einer doppelten, antagonistisch tätigen Innervation. Das bedeutet aber, daß die Annahme eines kortikalen Hemmungszentrums des Oculomotorius, dem Braunstein die Rolle des Gegenspielers des pupillenverengernden Sphinctertonus zusprach, hinfällig wird, es sei denn, daß man auch für den Dilatator iridis ein analoges Hemmungszentrum in der Hirnrinde postulieren wollte, wogegen aber weitere Versuche von Karplus und Kreidl (22) sprechen, aus denen hervorgeht, daß der Hypothalamus in seiner Wirkung auf die vegetativen Funktionen (und damit auch auf die Pupillenmotorik) vom Cortex völlig unabhängig ist.

Über diesen Einzelfall hinaus scheint uns die Auffassung, nach der das Großhirn ausschließlich und dauernd hemmend in das subkortikale Geschehen eingreift, zu einseitig, um der physiologischen Bedeutung dieses höchsten Hirnteiles gerecht werden zu können. Eine solche Auffassung übersieht die vielen Schwierigkeiten, die sich auch heute noch einer befriedigenden Erklärung der mannigfachen funktionellen Wechselbeziehungen zwischen subkortikalen Zentren und Hirnrinde entgegenstellen. Sie bewirkt so einen trügerischen Optimismus hinsichtlich unserer Einsicht in die zentralnervösen Zusammenhänge, der einer weiteren Aufklärungsarbeit, auch auf pharmakologischem Gebiete, nur hinderlich sein kann. Obwohl das Wesen der kortikalen Einflüsse auf die autonomen Funktionen auch heute noch weitgehend in Dunkelheit gehüllt ist (4), so kann man doch sagen, daß Vorstellungen wie die oben besprochenen sicher nicht richtig sind, nach denen die Hirnrinde gleichsam „selbstherrlich über den Funktionen des Organismus (und damit über den vegetativen Zentren des Hirnstammes) thront"*. Wir werden u. E. der Wirklichkeit weit eher gerecht, wenn wir in dem Großhirn nur ein Glied des alle Teile des Zentralnervensystems umfassenden nervösen Ausgleichapparates sehen, das hemmend oder erregend und in wieder anderen Fällen überhaupt nicht betätigt wird, nämlich dann nicht, wenn die subkortikale Steuerung zur Aufrechterhaltung des vegetativen Gleichgewichts allein ausreicht. Für diese Auffassung lassen sich die im hiesigen Institut von Beer und Richard (23) durchgeführten Versuche über die Blutzuckerregulation bei normalen und beiderseits chronisch großhirnlosen Katzen heranziehen. Sie fanden bei letzteren normale Nüchtern-Blutzuckerwerte und normale tageszeitliche Schwankungen der Glucosekurve; dagegen reagierten die rindenlosen Tiere auf starke parasympathische und sympathische Reize (Zufuhr großer Traubenzuckergaben, Fesselung) mit einer weit stärkeren

* Zitiert nach Karplus (2), dort S. 464.

Veränderung des Blutzuckerspiegels als die intakten Kontrollen, was für eine „gleichsam überschießende" parasympathische und sympathische Innervation der entrindeten Katzen bei starker Beanspruchung des Regulationsvermögens spricht. Beer und Richard schließen aus ihren Befunden, daß die Hirnrinde zwar in die Steuerung des Kohlehydrathaushalts eingeschaltet ist, aber nur unter gewissen, das vegetative Gleichgewicht bedrohenden Umständen.

Mit den Ergebnissen der eingangs besprochenen Versuche von Mettler und Culler (8) stimmen unsere Befunde insofern überein, als auch sie bei ihrem chronisch großhirnlosen Hunde nach Atropin (0,045 mg/kg) eine „deutlich stärkere" Pupillenerweiterung beobachteten als bei dem normalen Vergleichstier unter der gleichen Dosis. Darüber hinaus geben sie an, daß auch zahlreiche andere vegetative Gifte – darunter Morphin und Ephedrin – nahezu alle untersuchten autonomen Funktionen bei dem entrindeten Tier stärker, rascher und anhaltender beeinflußten als die des normalen. Sie schließen aus ihren Versuchen, daß die Hirnrinde normalerweise eine hemmende Wirkung auf die parasympathischen und sympathischen Gifte ausübt. Ihre Auffassung findet in unseren Versuchen mit Morphin und l-Pseudo-Ephedrin keine Bestätigung (s. o.). Diese betreffen allerdings nur die Pupillomotorik. Es wäre daher denkbar, daß die Behauptung der beiden amerikanischen Autoren mit Einschränkung, d. h. für andere vegetative Funktionen, zuträfe. Im übrigen verweisen wir auf das eingangs Gesagte.

Es soll abschließend noch einmal auf die auch nach unseren Erfahrungen bestehende Überempfindlichkeit der Iris entrindeter Tiere gegenüber Atropin eingegangen werden. Die Tatsache, daß dieses Alkaloid auch bei einer zur Zeit des Versuchs bereits seit 16 Monaten beiderseits großhirnlosen Katze eine abnorm starke Mydriasis auslöste, schließt eine auf Operationsschock beruhende Wirkungssteigerung aus. Es kann sich also bei dieser erhöhten Ansprechbarkeit nur um eine bleibende Abweichung von der Norm handeln. Im Sinne der oben erörterten Vorstellung von der Ausgleichfunktion des Großhirns glauben wir darin den Ausdruck einer durch Ausfall ihres kortikalen Anteils bedingten Schwächung des vegetativen Regulationsvermögens des entrindeten Tieres erblicken zu müssen, die gegenüber Atropin schon nach einseitigem Großhirnverlust in Erscheinung tritt, während sie gegenüber der mydriatischen Wirkung von Morphin und Pseudo-Ephedrin (wenigstens in den von uns angewandten Gaben) selbst bei beiderseitiger Ausschaltung der Hirnrinde ohne Bedeutung zu sein scheint.

Zusammenfassung.

1. Zur Entscheidung der Frage, ob die Ausschaltung der Großhirnrinde eine Enthemmung der autonomen Funktionen zur Folge hat, wurden einige teils zentral, teils peripher bzw. zentral und peripher angreifende

Mittel (Morphin, Atropin, l-Pseudo-Ephedrin) hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Pupillomotorik an normalen, ein- und beiderseitig chronisch großhirnlosen Katzen vergleichend geprüft.

2. Nur Atropin entfaltet bei den gehirnoperierten, vor allem aber bei den doppelseitig entrindeten Katzen eine wesentlich stärkere Wirksamkeit am Auge als bei den intakten Tieren. Dagegen war der mydriatische Effekt des Morphins und l-Pseudo-Ephedrins bei den 3 Gruppen entweder der gleiche oder nahezu derselbe.

3. Bei einer der doppelseitig großhirnlosen Katzen löste Atropin einen stundenlang anhaltenden Zustand hochgradiger psychomotorischer Erregung aus.

4. Die Lehre von den kortikalen tonischen Hemmungsapparaten der vegetativen Hirnstammzentren wird besprochen und auf Grund der Versuchsergebnisse abgelehnt.

5. Es wird eine einfache, photographische Methode zur Messung der Pupillenweite beschrieben.

Literatur.

1) Goltz, F.: Pflügers Arch. **51**, 570 (1892). — 2) Karplus, I. P.: Die Physiologie der vegetativen Zentren. Hdb. d. Neutrologie v. Bumke u. Foerster, 2. Bd., Allgem. Neurologie II, 402—475 (1937). — 3) Ebenda, S. 466. — 4) Kennard, M. A.: The cortical influence on the autonomic nervous system. Ebenda, S. 476—491. — 5) Pick, E. P.: In Lehrb. d. Experiment. Pharmakologie von Meyer und Gottlieb, 9. Auflage, 1936, S. 187 u. 517. — 6) Pick, E. P.: In „Der Schlaf", München, I. F. Lehmann, 1929, dort u. a. S. 85. — 7) Starkenstein, E.: Lehrbuch der Pharmakologie Toxikologie und Arzneiverordnung 1938, dort u. a. S. 106, 506, 507, 511. — 8) Mettler, F. A., u. E. Cüller: J. Pharmacol. (Am.) **52**, 366 (1934). — 9) Koch, F.: Quantitativ vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Schlafmitteln an normalen und chronisch großhirnlosen Tieren. Düsseldorf, Verlag G. H. Nolte, 1939. — 10) Girndt, O., u. H. Lempke: Pflügers Arch. **239**, 544 (1937). — 11) Poos: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **126**, 307 (1927). — 12) Poos: Erg. Physiol. usw. **41**, 882—916 (1939). — 13) Girndt, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 142 (1936). — 14) Mintscheff, P.: Ebenda **185**, 85 (1937). — 15) Schinosake u. Testishiro: Zit. nach 14). — 16) Starkenstein, E.: Lehrbuch der Pharmakologie usw. **1938**, S. 155, 174, 182. — 17) Starkenstein, E.: Heffters Handb. d. exper. Pharmakol. 2. Bd., S. 870. — 18) Schaltenbrand, G.: Dtsch. Z. Nervenhk. **108**, 209ff. (1929). — 19) Lotmar, F.: Die Stammganglien und die extrapyramidal-motorischen Syndrome. Berlin 1929. — 20) Braunstein: Innervation der Pupillenbewegungen. Wiesbaden 1894. — 21) Karplus, I. P., u. A. Kreidl: Pflügers Arch. **129**, 138 (1909). [Zit. nach 2).] — 22) Karplus, I. P., u. A. Kreidl: Ebenda **135**, 401 (1910). — 23) Beer, H., u. K. Richard: Z. exper. Med. **105**, 123 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Zur Biologie des 2.4-Diaminoazobenzols.

V. Mitteilung:

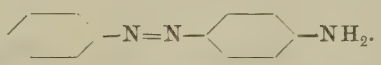
Versuche mit reiner Chrysoidinbase und einigen daraus hergestellten Verbindungen.

Von

Herbert Riedel.

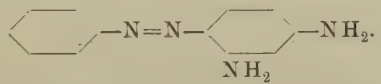
(Eingegangen am 25. Mai 1940.)

Die Azofarbstoffe enthalten als Chromophor die Azogruppe $-N=N-$ in ihrem Molekül, zwei durch eine Doppelbindung miteinander verknüpfte Stickstoffatome. Die Stickstoffatome sind andererseits mit iso- oder heterocyclischen Ringen verbunden, an denen die verschiedensten Substituenten, unter ihnen auch weitere Azogruppen, sitzen können. Das einfache Azobenzol $C_5H_5-N=N-C_6H_6$ ist bereits ein orangegelb gefärbter Körper. Befindet sich an einem der Benzolkerne eine Aminogruppe in para-Stellung zur Azogruppe, so hat man einen echten basischen Azofarbstoff vor sich, der unter dem Namen Anilingelb oder Spritgelb im Handel ist.



Das Dimethylderivat dieser Verbindung wird als Dimethylaminoazobenzol oder Buttergelb in der Technik und zum Färben von Kunstbutter verwendet.

Die Chrysoidinbase oder das 2, 4-Diaminoazobenzol enthält zwei Aminogruppen, die in meta-Stellung zueinander stehen:



Mehrere Amino- und Azogruppen sind im Bismarckbraun oder Vesuvin enthalten, das aus einem Gemisch zweier Komponenten besteht.

Die angeführten Farbstoffe stellen ein paar sehr einfache Beispiele aus der Gruppe der sogenannten basischen Azokörper dar. Durch Einführung von Alkyl-, Aryl-, Hydroxyl-, Nitro-, Sulfosäuregruppen, Halogenen oder heterocyclischen Kernen steigt dann die Zahl der möglichen Varianten der technisch verwendeten Azoverbindungen ins Ungemessene. Nur ein kleiner Bruchteil unter ihnen ist bisher Gegenstand medizinisch-wissenschaftlicher Forschung gewesen. Eine zusammenfassende Darstellung der biologisch untersuchten Azofarbstoffe findet sich bei Führer (1). Ca-

zeneuve und Lepine (2) prüften eine Reihe von sauren Azofarbstoffen auf ihre Toxizität, unter ihnen Orange I, Bordeaux B, Ponceau R und Echtgelb.

Penzoldt (3) beschäftigte sich mit Methylorange, Vesuvin, Tropäolin, Scharlachrot und Kongorot. Hayward (4) führte Untersuchungen an dem die Epithelisierung fördernden Scharlachrot durch. Aus dem ebenso wirkenden Aminoazotoluol wurde dann später durch Einführung zweier Azetylgruppen das Pellidol entwickelt.

Tschitschibabin und Seide (5), Ostromislensky (6) und Dohrn und Diedrich (7) stellten das Phenylazo-2, 6-diaminopyridin und 2′-Butoxypyridyl-5, 5′-azo-2, 6-diaminopyridin her, zwei Verbindungen mit heterocyclischen Ringen, die heute unter den Namen „Pyridium" und „Neotropin" als Harnantiseptica Verwendung finden. Dem „Prontosil rubrum" und „Prontosil solubile" liegen ebenfalls Azokörper als Basen zugrunde.

Die Reindarstellung der Chrysoidinbase wurde von Witt (8) vorgenommen, der auch die Umsetzungen dieser Substanz genau studiert hat. Vorher hatten schon Caro, Griess und Hofmann (9) das Chrysoidinhydrochlorid in Händen. Therapeutisch wurde das salzsaure Salz von Balfour (10) bei experimentell erzeugten Trypanosomeninfektionen verwandt. Blaschko (11) hat bei der technischen Großdarstellung des Chrysoidins schwere Dermatitiden beobachtet. Nach Fränkel (12) soll salzsaures 2, 4-Diaminoazobenzol die Fähigkeit besitzen, schon in sehr verdünnten Lösungen Cholera- und andere Vibrionen zu agglutinieren. Außerdem soll es nach innerlicher Verabreichung Abnahme des Körpergewichts und geringe Albuminurie hervorrufen. Seine bakterizide Wirkung wurde von Eisenberg (13) untersucht und dabei festgestellt, daß in einer Konzentration 1 : 1000 Gram-negative Keime, in einer Konzentration 1 : 10000 Gram-positive Keime in der Entwicklung gehemmt werden. Die genannten Autoren hatten alle für ihre biologischen Untersuchungen salzsaures Chrysoidin des Handels verwendet. Da das technisch hergestellte Chrysoidin jedoch durchaus kein einheitlicher Körper ist und wahrscheinlich Methylhomologe enthält, erschien es mir notwendig, die reine Chrysoidinbase in Gestalt des 2, 4-Diaminoazobenzols durch einige Versuche zu charakterisieren.

Chemismus. Bei der Darstellung des 2, 4-Diaminoazobenzols wurde nach dem in der dritten Mitteilung beschriebenen Verfahren vorgegangen. Anilinchlorhydrat und Natriumnitrit wurden bei 0^0 zur Reaktion gebracht und das entstandene Diazoniumsalz mit m-Phenylendiamin gekuppelt. Die zweimal aus heißem Wasser umkristallisierte Farbbase hatte einen Schmelzpunkt von 117^0. Die Ergebnisse der Mikroanalyse entsprachen genau den berechneten Werten, und ich konnte somit als sicher annehmen, in dem synthetischen Produkt auch wirklich das 2, 4-Diaminoazobenzol

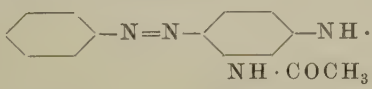
dargestellt zu haben. Der Vollständigkeit halber wurden mit der Chrysoidinbase noch einige von Witt beschriebene Umsetzungen vorgenommen:

Nach Zusatz von Chrysoidinbase in Einzelportionen zu konzentrierter Schwefelsäure und vorsichtigem Erhitzen des Reaktionsgemisches auf dem Wasserbade entstand die 4'-Chrysoidinsulfonsäure, die nach dem Eingießen der Schwefelsäurelösung in kaltes Wasser in mikroskopisch feinen Nädelchen ausfiel.

In verdünnten Mineralsäuren löste sich die pulverförmige gelbe Farbbase sofort unter starker Rotfärbung auf. Witt gab an, daß die einfach sauren Salze in zwei verschiedenen Kristallformen vorkämen. Aus heißem Wasser sollten bei allmählicher Abkühlung Oktaeder entstehen, während sich bei raschem Erkalten, bei Säureüberschuß oder in anderen Lösemitteln als Wasser längliche Prismen bildeten. Hierzu wurde folgender Versuch angesetzt: Reine Farbbase wurde zu 25 %iger Salzsäure gegeben. Dabei blieben schon nach Zusatz geringer Mengen auch nach Erwärmen rötlich gefärbte Klumpen ungelöst. Die gelöste Menge des entstandenen salzsauren Chrysoidins konnte nur sehr gering sein, da die Lösung noch gut durchscheinend war. Wurde jedoch 2, 4-Diaminoazobenzol reichlich in Alkohol gelöst und die Lösung mit 25 %iger Salzsäure versetzt, so erstarrte das ganze Reaktionsgemisch nach wenigen Minuten zu einer Gallerte. Nach Zugabe der gleichen Menge Wasser, Erhitzen und Abkühlen der entstandenen klaren Lösung schied sich dann das Chrysoidinchlorhydrat nach einiger Zeit in sehr schön regelmäßig gebildeten länglichen Prismen ab. Löste man diese Prismen in heißem Wasser und ließ langsam erkalten, so erhielt man statt der jetzt erwarteten Oktaeder wieder die prismenförmigen Gebilde.

Das Chrysoidinsalz der Orthophosphorsäure, das Witt nicht beschrieben hat, konnte auf die eben beschriebene Weise nicht erhalten werden. Es entstanden nur kugelförmige gallertige Aggregate.

Bei der Behandlung von 2, 4-Diaminoazobenzol mit Essigsäureanhydrid im siedenden Wasserbade bildete sich das Diazetylchrysoidin:



Die Verbindung hatte den von Witt angegebenen Schmelzpunkt von 250,5°. Die Dibenzylverbindung schied sich beim Abkühlen aus einem Reaktionsgemisch, das aus Benzylchlorid und Chrysoidinbase bestand und bis auf 100° erhitzt wurde, in dunklen Flocken ab.

In der Lösung des Chrysoidinchlorhydrats entstand nach Zusatz von gesättigter wässeriger Pikrinsäure- oder Pikrolonsäurelösung sofort eine starke Fällung.

Unter den Verbindungen mit organischen Säuren wurden die Salze der Mandelsäure, Salicylsäure und p-Aminobenzoesäure untersucht. Die

Darstellung erfolgte einfach durch Aufeinandereinwirkenlassen der Komponenten in alkoholischer Lösung und molaren Verhältnissen.

Das mandelsaure Salz schied sich nach mehreren Tagen in kleinen granatfarbenen Kristallen aus. Die Löslichkeit dieses Salzes betrug in destilliertem Wasser von 18° mindestens 1 : 400. In physiologischer Kochsalzlösung war sie etwas geringer. Das Salicylat schied sich in schönen länglichen Täfelchen aus, die sich zu fächerartig angeordneten Aggregaten verbanden. Die Verbindung des 2, 4-Diaminoazobenzols mit p-Aminobenzoesäure kristallisierte erst nach vollständigem Abdunsten des als Lösungsmittel verwendeten Alkohols aus. Beim Versetzen der konzentrierten wässerigen Lösungen dieser Salze mit Pikrin- oder Pikrolonsäurelösung entstanden sofort starke Fällungen. Die Milchsäure- und Citronensäureverbindung konnten durch Zusammenbringen der Komponenten aus äthylalkoholischer Lösung nicht kristallisiert erhalten werden.

Biologisches. Die Toxizität des reinen 2, 4-Diaminoazobenzols wurde an Mäusen, Ratten, Katzen, Kaninchen und Hunden untersucht. 30 g schwere Mäuse starben nach oraler und subcutaner Gabe von 50 mg in 0,5 ccm Wasser suspendierter Farbbase im Verlauf weniger Minuten.

250 g schwere Ratten vertrugen 250 mg per os nach Beurteilung ihres äußeren Verhaltens sehr gut. Wurde etwa gleich schweren Tieren 100 mg als Suspension unter die Rückenhaut gespritzt und die Ratten 3 Tage nach der Applikation getötet, so fand sich im Stichkanal noch unverändertes 2, 4-Diaminoazobenzol. Die Umgebung zeigte eine geringe Gefäßinjektion und war deutlich sulzig infiltriert. Der gleiche Versuch wurde mit „Azorhodan R" und „Azorhodan Alt" wiederholt. Auch hier zeigte sich eine zwar geringe, aber doch wahrnehmbare Injektion und beim „Azorhodan R" auch sulzige Infiltration.

Eine 3,5 kg schwere Katze und ein 3 kg schweres Kaninchen bekamen je 1 g Farbbase, ein 17 kg schwerer Hund 2 g mit der Schlundsonde. Alle Tiere überstanden den Versuch gut, nur der Hund erbrach 30 Minuten nach der Applikation etwas rot gefärbten Mageninhalt. Bei etlichen Versuchen wurde einige Zeit nach der Applikation Blut entnommen, um festzustellen, ob vielleicht eine Veränderung des roten Blutfarbstoffs stattgefunden hätte. Die Entnahme erfolgte bei den Ratten durch Herzpunktion, bei der Katze durch Anschneiden der Ohrrandvene, beim Hunde durch Punktion einer Unterschenkelvene. Die Ratten und die Katze hatten bei den oben angegebenen Dosen 1 Stunde nach der Applikation Methämoglobin im Blute. Beim Hunde wurde 4 Stunden nach der Gabe eine Probe entnommen, die spektroskopisch einen sehr deutlichen Methämoglobinstreifen aufwies. Hier ergab sich also der Fall, daß auch ein aromatisches Diamin in merklicher Menge den roten Blutfarbstoff im Sinne der Methämoglobinbildung veränderte, was bisher nur in wenigen Fällen beobachtet wurde (14).

Außer diesen akuten Versuchen wurde noch ein chronischer angesetzt, in dem Ratten 30 Tage lang Chrysoidinbase mit der Schlundsonde verabfolgt wurde. Die Tiere wogen zwischen 200 und 250 g und bekamen täglich 50 mg 2, 4-Diaminoazobenzol in Dextrinsuspension. Da das 2, 4-Diaminoazobenzol mit seinen beiden in meta-Stellung zueinander befindlichen Aminogruppen als mit einem etwas umfangreicheren Substituenten versehener Abkömmling des m-Phenylendiamins, aus dem es ja hergestellt wurde, aufzufassen ist, wurde außerdem noch reines m-Phenylendiamin und ein Methylderivat desselben, das Toluylendiamin oder 1-Methyl-2, 4-diaminobenzol, zum Vergleich Ratten über längere Zeit per os verabreicht. Die Dosen wurden hier, entsprechend den niedrigeren Molekulargewichten dieser beiden einfachen Substanzen niedriger gehalten. Während die Farbstofftiere täglich 50 mg 2, 4-Diaminoazobenzol erhielten, bekamen die anderen 30 mg Toluylendiamin bzw. 25 mg m-Phenylendiamin. Während der 30 Tage lang durchgeführten Farbbasen-Verfütterung wurde in dem äußeren Verhalten der Tiere nichts Abnormes bemerkt, außer einer eben wahrnehmbaren Cyanose, die an nicht behaarten Hautstellen besonders hervortrat. Bei zwei von insgesamt vier mit Farbbase behandelten Tieren fand sich im Blute Methämoglobin. Der Nachweis erfolgte spektroskopisch. Die hämolysierte verdächtige Blutlösung wurde vor und nach Cyanidzusatz beobachtet. Verdohämochromogen konnte unter diesen Bedingungen nicht nachgewiesen werden. Der Sektionsbefund wies bei allen Tieren stark vergrößerte fast blauschwarze Milzen auf. Das histologische Bild wurde hier im Gegensatz zu dem normaler Rattenmilzen fast vollständig von der sogenannten roten Pulpa beherrscht. Das ganze Organ erschien mit roten Blutkörperchen vollgepfropft. Überall fanden sich reichlich grünlichbraun gefärbte Erythrocytentrümmer. An den Lebern war außer starkem Blutreichtum insbesondere der Zentralvenen nichts Auffälliges zu bemerken. Die Nierenrinde war ebenfalls etwas hyperämisch. In dem Parallelversuch mit Toluylendiamin erschienen die Tiere schon nach der ersten Gabe von 30 mg beeinträchtigt. Sie hockten zusammengekauert mit stark gesträubtem Fell in einer Ecke des Käfigs. Am 2. und 3. Behandlungstage fühlten sie sich sehr schlaff und kalt an. Im Laufe des 4. Tages waren die vier im Versuch befindlichen Ratten gestorben. Die Lebern waren blutreich, ebenso die Nieren, bei denen die Glomeruli durchweg von Erythrocyten überschwemmt waren. Die Applikation von 25 mg m-Phenylendiamin, die 30 Tage lang erfolgte, wurde merkwürdigerweise gut überstanden. An den Organen fiel wiederum stärkere Hyperämie auf.

Geschmack. Wegen der schlechten Löslichkeit des 2, 4-Diaminoazobenzols war in wässerigen Lösungen außer einer flüchtigen ganz feinen Bitterempfindung kaum etwas zu bemerken. Gab man jedoch Farbbase zu etwas angewärmtem Glycerin, so trat ziemlich gute Lösung ein. Diese Glycerinlösung erzeugte an der Zungenspitze und den Zungenrändern sehr rasch Brennen, das von einem wenige Minuten anhaltenden tauben Gefühl

abgelöst wurde. Das Chlorhydrat, Salicylat, Mandelat und p-Aminobenzoat verhielten sich in dieser Beziehung ähnlich.

Die einmalige Applikation von 2, 4-Diaminoazobenzol, das in 25 %igem wässerigem Glycerin gelöst war, rief auf der Bindehaut von Hunden und Katzen ebensowenig Entzündungserscheinungen hervor wie die Glycerinlösungen ohne Farbbasenzusatz.

Die Ergebnisse einer Untersuchung über die bakterizide Wirkung des reinen 2, 4-Diaminoazobenzols, einiger seiner Salze und des Toluylen- und m-Phenylendiamins sind in der folgenden Tabelle dargestellt. Die Methodik entsprach der in früheren Arbeiten angewendeten. Für „gewachsen" findet sich in der Tabelle ein Plus-Zeichen (+), für „nicht gewachsen" ein Minus-Zeichen (—). Die meisten Versuche wurden mit Staphylokokken ausgeführt, einige wenige mit Coli-Bakterien.

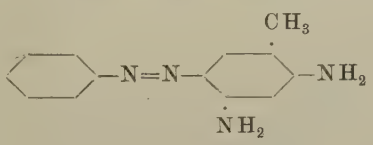
Substanz	Konzentration	Bakterienart	Einwirkungszeit			
			1 Min.	5 Min.	25 Min.	125 Min.
2, 4-Diaminoazobenzol	gesättigt in 0,9 %igem NaCl	Staphyl. pyog. aur.	+	+	+	+
2, 4-Diaminoazobenzol	1 : 1000 in 25 %igem Alkohol	„	+	—	—	—
2, 4-Diaminoazobenzolchlorhydrat rein	1 : 400 in 0,9 %igem NaCl	„	+	+	schwach	—
Chrysoidin technisch	1 : 400 in 0,9 %igem NaCl	„	+	schwach	—	—
2, 4-Diaminoazobenzolmandelat	1 : 400 in 0,9 %igem NaCl	„	+	+	schwach	—
2, 4-Diaminoazobenzolmandelat	1 : 400 in 0,9 %igem NaCl	Bacterium coli	+	—	—	—
2, 4-Diaminoazobenzolsalicylat	1 : 6000 in 0,9 %igem NaCl	Staphyl. pyog. aur.	+	+	+	+
2, 4-Diaminoazobenzolsalicylat	1 : 1000 in 0,9 %igem NaCl	„	+	+	+	—
2, 4-Diaminoazobenzol-p-aminobenzoat	gesättigt in 0,9 %igem NaCl	„	+	+	+	+
Toluylendiamin	1 : 500 in 0,9 %igem NaCl	„	+	+	+	+
m-Phenylendiamin	1 : 500 in 0,9 %igem NaCl	„	+	+	+	+

Diese Befunde lassen erkennen, daß konzentrierten wässerigen Lösungen der reinen Farbbase in den angegebenen Zeiten keine bakterizide Bedeutung zukommt. Da jedoch die Konzentration hier eine sehr niedrige war, läßt sich auch nichts anderes erwarten. Sehr günstig liegen die Ver-

hältnisse bei der Konzentration 1 : 1000 in 25%iger alkoholischer Lösung, die nach einer Einwirkungszeit von höchstens 5 Minuten das Angehen von Staphylokokken verhinderte. Zum Vergleich sei hier nur angeführt, daß Phenollösungen in einer Konzentration 1 : 100 aufgeschwemmte Staphylokokken erst nach 20—25 Minuten abtöten. Daß den beiden Aminogruppen im 2, 4-Diaminoazobenzol hinsichtlich der keimtötenden Eigenschaft allein keine Bedeutung zukommt, geht aus den Versuchen mit Toluylendiamin und m-Phenylendiamin hervor, in denen mit diesen beiden Körpern in ziemlich hoher Konzentration kein Effekt erzielt werden konnte.

Ausscheidung. Es wurden 100 mg 2, 4-Diaminoazobenzol in etwas Wasser suspendiert eingenommen. 4 Stunden später wurde ein tief orangeroter Harn ausgeschieden. Diese Portion wurde mit etwas Natronlauge versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Dabei nahm das Chloroform gelbe Farbe an. Die Gelbfärbung war durch den Gehalt des Harns an unveresterter Farbbase bedingt, die durch das Alkalisieren aus der Lösung ihres Salzes freigesetzt wurde. Im Anschluß hieran wurde der Harn mit einer ausreichenden Menge Salzsäure angesäuert, bis zum Sieden erhitzt, abgekühlt und nach Alkalisieren wieder mit Chloroform extrahiert. Das Chloroform färbte sich jetzt viel stärker gelb, so daß angenommen werden mußte, daß die Hauptmenge des ausgeschiedenen gefärbten Körpers in veresterter Form vorlag.

Schlußbemerkung. Das 2, 4-Diaminoazobenzol stellt neben dem eingangs erwähnten Spritgelb und Buttergelb einen der unkompliziertesten basischen Azofarbstoffe dar, der durch seine chemischen Eigenschaften genau definiert werden kann. Einige Reaktionen wurden in der vorliegenden Untersuchung beschrieben. Nebenher sei erwähnt, daß der Anstoß dazu nicht nur durch die starke Diskrepanz der Schmelzpunkte einiger sogenannter technischer Chrysoidinbasen, sondern auch durch die früher (15) beschriebene Tatsache gegeben wurde, daß der Schmelzpunkt der Base des „Azorhodan Alt" statt bei 117°, wie es für 2, 4-Diaminoazobenzol angegeben wird, bei 159° lag. Diese Frage wurde inzwischen durch die Synthese einer Azobase geklärt, bei der diazotiertes Anilin mit Toluylendiamin (2, 4-Diaminotoluol) gekuppelt wurde. Das Ergebnis dieser Synthese war eine Substanz mit einem Schmelzpunkt von 159°, die in ihren Eigenschaften dem 2, 4-Diaminoazobenzol außerordentlich ähnelte, der aber die untenstehende Konstitution gegeben werden muß:



5-Methyl-2, 4-Diaminoazobenzol.

Dieses Methylderivat des 2, 4-Diaminoazobenzols bildet also den basischen Baustein des „Azorhodan Alt".

Die akute Giftigkeit des 2, 4-Diaminoazobenzols scheint nach den angestellten Versuchen keine sehr große zu sein. Wenn Mäuse an einer für ihre Verhältnisse riesigen Dosis eingehen, so will das noch nicht allzuviel bedeuten. Die Verabreichung von Dosen, die ein Vielfaches der jemals für die menschliche Therapie in Betracht kommenden Gaben ausmachten, an Hund, Katze und Kaninchen beeinträchtigte die Tiere in ihrem äußeren Verhalten in keiner Weise. Bedenklich erscheint dagegen das Auftreten von Methämoglobin im Blute von Katze, Hund und Ratte. Auf diesen Umstand war sicher die cyanotische Hautfarbe der chronisch mit 2, 4-Diaminoazobenzol gefütterten Ratten zurückzuführen. Der mikroskopisch-anatomische Befund der Milz dieser Tiere deutet außerdem noch auf einen außerordentlich gesteigerten Blutzerfall hin, so daß sich der schädigende Effekt des 2, 4-Diaminoazobenzols nicht nur auf den roten Blutfarbstoff beschränkt, sondern sich auch an der Erythrocytenstruktur bemerkbar macht. Im Unterhautzellgewebe ruft die Base geringgradige Entzündungserscheinungen hervor. Vielleicht steht der brennende Geschmack, durch den sich das 2, 4-Diaminoazobenzol und seine Salze auszeichnen, damit im Zusammenhang. Ein Vergleich der Desinfektionswirkung des „Azorhodan Alt", „Azorhodan R" und 2, 4-Diaminoazobenzols Staphylokokken gegenüber fällt für die reine Chrysoidinbase sehr günstig aus, denn sie ist in einer Verdünnung 1 : 1000 in 25%igem Alkohol fast so wirksam wie „Azorhodan R", d. h. das Monorhodanid der Base in der gleichen Verdünnung. In der Desinfektionslösung suspendierte Staphylokokken waren nach 5 Minuten schon so geschädigt, daß sie auf Nährplatten nicht mehr angingen. Bezüglich der Ausscheidung in den Harn verhält sich das 2, 4-Diaminoazobenzol wie „Azorhodan Alt". Es erscheint wie dieses in zwei Fraktionen, von denen die erste durch einfaches Ausschütteln des alkalisch gemachten Harns mit Äther oder Chloroform, die zweite durch Säurezusatz und Aufkochen bewirkte hydrolytische Spaltung und abermalige alkalische Extraktion gewonnen werden kann.

Zusammenfassung.

Es wurden einige Angaben über das chemische und biologische Verhalten des 2, 4-Diaminoazobenzols oder der reinen Chrysoidinbase gemacht. In den Desinfektionsversuchen fanden außer der Base selbst auch einige ihrer Salze und neben einem technischen Chrysoidin auch m-Phenylendiamin und Toluylendiamin Berücksichtigung. Auf die im akuten Versuch auftretende Veränderung des roten Blutfarbstoffs, sowie den nach chronischer Verfütterung nach Farbbase bei Ratten zu beobachtenden merkwürdigen Milzbefund wurde besonders hingewiesen.

Literatur.

1) Führer: Heffters Handbuch der exper. Pharmakologie, Bd. I. Verlag Jul. Springer. — 2) Cazeneuve u. Lepine: Coloration des vins. Paris 1866. — 3) Penzoldt nach Fränkel, S.: Die Arzneimittelsynthese, S. 628 ff. Berlin, Jul. Springer, 1919. — 4) Hayward, E.: Münch. med. Wschr. **1909**, S. 1836. — 5) Tschitschibabin u. Seide: J. russ. phys. chem. Ges. **1916**, S. 46, ref. im Chem. Zbl. **1915**, I, S. 1064. — 6) Ostromislensky: J. amer. chem. Soc. **56**, 1713 (1934). — 7) Dohrn u. Diedrich, a. a. O. — 8) Witt, O. N.: Ber. dtsch. chem. Ges. **10**, 654 (1877). — 9) Witt, O. N.: Ebenda **10**, 654 (1877). — 10) Balfour, zitiert von Weber, H.: Z. exper. Path. u. Ther. **4**, 612 (1907). — 11) Blaschko, A.: Dtsch. med. Wschr. **1891**, S. 1241. — 12) Fränkel, S.: Die Arzneimittelsynthese, S. 628. Berlin, Julius Springer, 1919. — 13) Eisenberg, Zbl. Bakter. usw. **1913**, Bd. 71. — 14) Lewin, L.: Gifte und Vergiftungen, S. 543. Berlin, Verlag Stilke, 1929. — 15) Riedel, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 190 (1940) und **195**, 75 (1940).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.
(Direktor: Prof. Dr. Frey.)

Die Wirkung des Fumarins.

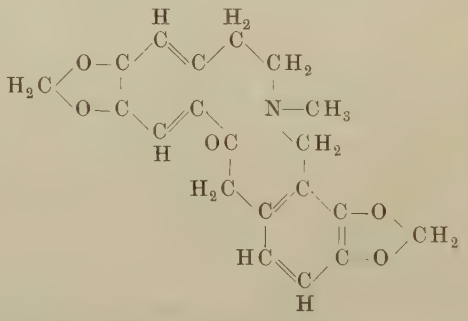
Von

Wilhelm Bolm, cand. med.

(Eingegangen am 11. Mai 1940.)

Einleitung. Vorkommen und Chemie.

Unter dem Namen Protopin ist zuerst von Hesse[1] ein Alkaloid aus Opium dargestellt worden, das sich auch in anderen Papaveraceen findet, so im Chelidonium majus, im Stylophoron diphyllum[2]. Ferner ist das Alkaloid in Bocconia cordata, Adlumia cirrhosa, Fumaria officinalis, Sanguinaria canadensis, Eschscholzia californica, Glaucum luteum, Diclytra spectabilis, Argemone mexicana, in Dicentra- wie auch in Corydalis-Arten[3]. Die Substanz, welche wir untersuchten, stammt von Fumaria officinalis und wurde uns von der Ysatfabrik in Wernigerode zur Verfügung gestellt. Sie ist identisch mit dem Protopin. Ihre Formel lautet: $C_{20}H_{19}NO_5$ und ihr Formelbild ist nach Wolffenstein[4]:



Von neueren Arbeiten liegt eine große Anzahl von chemischen Untersuchungen über verwandte Alkaloide von Manske[5] vor.

Bisherige pharmakologische Untersuchungen.

Das Protopin aus Opium und Chelodonium ist nur zweimal pharmakologisch untersucht worden, in einer Arbeit von Engel[6] und von Meissner[7].

[1] Ann. Chem. u. Pharm. Suppl.-Bd. VIII, 1870. — [2] Selle: Inaug.-Diss. Erlangen 1889. — [3] Schmidt, A. Pharm. **239**, 359; Gadamer: A. Pharm. **249**, 224; Apoth.-Z. **16**, 621. — [4] Pflanzenalkaloide, S. 315. Berlin 1922. — [5] Jber. Physiol. über 1932, Bd. 13, 905; Ber. Physiol. **75**, 225, 1933; **75**, 43, 1934; **98**, 542, 1937; **101**, 554, 1937; **103**, 34, 1938; **108**, 406, 1938; **109**, 550, 1939. — [6] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **27**, 417, 1890. — [7] Biochem. Z. **73**, 236, 1916.

Frösche zeigen nach 2 oder 4 oder 6 mg (in den Lymphsack) Lähmung und geringe Reflexerregbarkeit. Ferner wirkt Protopin peripher lähmend: Nach Injektion von 5 oder 7 oder 6 mg und Reizung des Ischiadicus sind die Zuckungen des Beines mit abgebundener Arterie sehr viel besser als die des Beines mit erhaltener Zirkulation, sowohl die Höhe der Einzelzuckung ist beim vergifteten kleiner wie auch der Tetanus auf tetanische Reizung nur unvollständig, er besteht in ruckweisen Reihen von Zusammenziehungen. Es handelt sich also um eine periphere Muskelwirkung. – Beobachtet man ein Froschherz in situ und gibt dem Frosch 6 mg in den Lymphsack, so werden die Pulse kleiner, nehmen an Frequenz ab, werden unregelmäßig, und man sieht unvollständige Systolen, wurmförmige Kontraktionen; Atropin ist dabei unwirksam.

Am Meerschweinchen wird starke Erregung beobachtet. So tritt nach subcutaner Injektion von 5 mg Protopin Unruhe auf, nach 60 mg wird die Unruhe sehr stark, es kommt zu Krämpfen, Trismus und Opisthotonus, zu Laufbewegungen, dazwischen Erschöpfung, dann wieder neue Krämpfe. Nach 100 mg tritt im Krampfanfall der Tod durch Erstickung ein. Niemals wurde eine narkotische Wirkung beobachtet.

Auch bei der Katze treten Krämpfe schon auf, wenn man einem nichtcuraresierten Tier 40 mg intravenös injiziert. Der Blutdruck sinkt nur kurze Zeit etwas ab, steigt dann während der Krämpfe wieder. Auch an der curaresierten Katze ist die Wirkung von 20 mg und weiterhin von 10 und 20 mg intravenös nur eine geringe Blutdrucksenkung von kurzer Dauer; später steigt der Blutdruck über die Norm.

Im Blutdruckversuch am Kaninchen ist keine Lähmung der peripheren Herznerven oder des vasomotorischen Zentrums zu sehen (bei direkter Reizung). Engel betont, daß bei Erstickung der Blutdruck nicht steigt sondern fällt; aber es kann keine absolute Lähmung des vasomotorischen Zentrums vorliegen, da Rückenmarksreizung den Blutdruck wieder hebt. Engel schreibt, daß Protopin in kleinen Dosen den Vagus lähmt, aber die zwei Vagusreizungen an der Katze zeigen, soweit man aus den Zeitangaben ersehen kann, einmal ein Absinken des Blutdrucks auf Null, das andere Mal keinen Einfluß auf Druck oder Frequenz. Das erste Mal ist beim curaresierten Tier gleichzeitig die künstliche Atmung abgestellt worden, und es war auch schon vor der Vergiftung der Reiz des rechten Vagus wenig, des linken fast gänzlich unwirksam. Im zweiten Versuch fehlt die Bestimmung des Effektes der Reizung vor der Vergiftung.

Eine zweite Untersuchung, und zwar über die Darmwirkung des Protopins liegt von Meissner[8] vor. Er verglich die Wirkung der Opiumalkaloide auf den Darm miteinander. Vom Protopin sagt er, daß es in der Mehrzahl der Fälle am Kaninchendünndarm lähmend wirkt, nur einmal kam es zu einer Darmerregung.

[8] Biochem. Z. **73**, 236, 1916.

Anwendung der Fumaria.

Nach Madaus[9] wird Fumaria als Blutreinigungsmittel gegen Leber- und Gallenleiden, als harn- und schweißtreibend, gegen chronisches Ekzem, auch als Spezificum gegen Krebs und Lepra angewandt. „Fumaria ist ein altbewährtes und vielleicht unser bestes Blutreinigungsmittel, das anregend auf die Ausscheidung der Harn- und Verdauungsorgane (Leber, Magen, Darm) und Haut wirkt. Sehr beliebt ist demnach die Verordnung bei Leber- und Gallenkrankheiten, wie Leberverhärtung, Gallenblasenentzündung und -steinen, bei Magenschwäche, spastischer Obstipation, Flatulenz der Kinder mit üblem Mundgeruch, Hydrops, auch Ascites, allen Unterleibsstockungen, Hypochondrie und Hysterie."

Außer dieser Angabe über eine sehr vielseitige Wirksamkeit der Fumaria ist im Schrifttum keine Angabe über die therapeutische Anwendung des Fumarins zu finden.

Versuche am Frosch.

Wir benutzten eine 0,5%ige Lösung des Fumarinhydrochlorids. Nach Injektion von 2,5 ccm (= 12,5 mg) in den Rückenlymphsack tritt nach 1 Stunde eine Lähmung ein, der Frosch erträgt Rückenlage, die Reflexe sind deutlich abgeschwächt. Am Tage darauf liegt der Frosch gelähmt da, es treten auf Reiz hin schwache Reflexkrämpfe auf. Einige Stunden später kommt es zu klonischen Krämpfen, die auch den nächsten Tag noch anhalten. — Nach Injektion von 1 ccm 0,5%iger Fumarinlösung (= 5 mg) in den Lymphsack traten nach $^1/_2$ Stunde spontane Krämpfe auf; die Reflexe waren schwach. Nach 3 Stunden immer noch spontane Krämpfe.

Es treten also neben der schon von Engel beschriebenen Lähmung nach Fumarin beim Frosch auch Krämpfe auf.

Nach Min.	Frequenz in der Min.	Höhe der Kontraktionen auf der Kurve mm	Bemerkungen
0	60	11	
1	60	11	
$1^3/_4$	60	11	3 Tropfen 0,05% Fumarin
2	68	9	
3	76	5	
4	52	3	
5	52	2,5	Auswaschen
7	52	7	
8	52	7	
9	52	6	
$9^3/_4$	52		5 Tropfen 0,05% Fumarin
$10^1/_4$	44	1	
11		0	Auswaschen
13	56	12	

[9] Lehrbuch der biologischen Heilmittel, Abt. I, Heilpflanzen Bd. II, 1391, Leipzig 1938.

Wirkung am Froschherz.

In der Straubschen Versuchsanordnung wurde die Wirkung von Fumarin am Herzen untersucht. Das Herz schlug mit 1.5 ccm Ringerscher Flüssigkeit (s. vorstehende Tabelle).

Es läßt sich also — nach hohen Kontraktionen — eine herzschädigende Wirkung des Fumarins beobachten. Doch ist sie durch Auswaschen sehr schnell zu beheben. Wir werden sehen, daß die anderen peripheren Wirkungen ebenfalls prompt reversibel sind.

Wirkung auf Froschmuskel und Nerv.

Am Nerv-Muskel-Präparat (Gastrocnemius-Ischiadicus) wurde die Wirkung des Fumarins auf die Leitfähigkeit des Nerven in der Weise untersucht, daß eine Schlinge des Ischiadicus zwischen Reizelektroden und Muskel in einem kleinen Gefäß mit Ringerlösung lag. Diese wurde gegen eine 0,25 %ige Fumarinlösung ausgewechselt. Gereizt wurde mit maximalen Öffnungsschlägen. Im Verlaufe 1 Stunde sank die Leitfähigkeit des Nerven auf Null. Nun wurde die Fumarinlösung in dem Gläschen wieder durch Ringersche Flüssigkeit ersetzt: nach 15 Minuten war die Leitfähigkeit wieder völlig hergestellt. Die Lähmung des Nervenstammes tritt also in sehr starken Lösungen erst langsam ein. Sie ist schnell und vollständig reversibel.

Die Wirkung auf den Muskel selbst wurde am Sartorius geprüft, der in der Giftlösung aufgehängt, seine Kontraktionen durch einen Schreibhebel auf einem Kymographion aufzeichnete. Gereizt wurde wieder mit maximalen Öffnungsschlägen, und zwar mit Einzelschlägen in nicht ermüdendem zeitlichem Abstand. Zur Anwendung kam eine 0,05 %ige Lösung von Fumarin. Nach 10 Minuten wurden die Ausschläge des Hebels kleiner und nach 15 Minuten war der Muskel vollständig gelähmt. Nach Auswaschen mit Ringerlösung erholte sich der Muskel vollständig.

Wirkung an Ratten und Mäusen.

a) Die erregende Wirkung, welche Engel[10] beim Meerschweinchen und bei der Katze sah, konnten auch wir an Ratten und Mäusen beobachten. Engel beschreibt die Aufregungszustände als Unruhe bis zu heftigen Krämpfen; sie tragen den Charakter epileptischer Spontankrämpfe und sind reflektorisch nicht auslösbar. Nach größeren Gaben, für Meerschweinchen 40 mg, für Katzen 80—100 mg, treten die Krämpfe periodisch auf, bestehen in Lauf- und Sprungbewegungen, in Trismus und Opisthotonus bis zu „wildem Umhergeschleudertwerden“. Ein narkotisches Stadium ist niemals, auch nicht andeutungsweise vorhanden.

---

[10] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **27**, 428, 1890.

Wir beobachteten nach niederen Dosen bei Mäusen 2.5 mg subcutan, bei Ratten bis 25 mg subcutan oder 4 mg intravenös eine deutliche Beruhigung; höhere Dosen zeigten auch an Ratten die oben beschriebene Erregung. Diese einfache Beobachtung wurde am Zitterkäfig genauer studiert (s. u.).

Niedere Dosen: Eine 115 g schwere Ratte erhält 2 mg Fumarin in 0,5 %iger Lösung in die Schwanzvene; anfänglich Unruhe, aber schon nach 1 Minute sitzt das Tier ruhig unter der Glasglocke. Nach einer halben Stunde kann man die Glasglocke abnehmen, ohne daß ein Fluchtversuch gemacht wird. Nach einer weiteren halben Stunde ist das Tier wieder normal.

Mittlere Dosen: Eine 140 g schwere Ratte erhält 5 mg Fumarin in 0,5 %iger Lösung in die Schwanzvene; nach 1 Minute läuft das Tier umher unter den Zeichen stärkster Unruhe mit heftigen Kaubewegungen. Darauf Krämpfe der Nackenmuskulatur und der Vorderbeine, das Tier läuft rückwärts und führt krampfhafte Sprünge aus. Kurz darauf liegt die Ratte flach auf dem Bauch. Nach 5 Minuten läuft sie, sich dauernd drehend umher. Dann wieder erschöpft. Dieser Zustand der Erschöpfung hält etwa $^3/_4$ Stunden an, dann tritt langsam Erholung ein.

Hohe Dosen: Nach der Injektion von 10 mg Fumarin in die Schwanzvene einer 115 g schweren Ratte tritt nach 30 Sekunden unter heftigsten Krämpfen der Tod durch Ersticken ein.

Bei allen diesen Versuchen kommt gelegentlich bei Ratten und Mäusen ein Hochhalten des Schwanzes vor, es tritt also auch nach Fumarin die Schwanzreaktion des Morphins auf, wie sie Straub[11] beschreibt.

b) Um die beruhigende Wirkung nach Gaben kleinerer Mengen von Fumarin zu demonstrieren, wurden die Tiere in einem kleinen Käfig auf eine Briefwaage gesetzt die mit einem Schreibhebel versehen die Bewegungen des Käfigs auf einem sich langsam drehenden Kymographion aufzeichnete. Die Bewegungen wurden 24 Stunden lang aufgeschrieben, um das Verhalten der Tiere am Tage und in der Nacht festzustellen. Nach dem ersten Tage erhält die Ratte 0,5 ccm 0,5 %igen Fumarins subcutan. Die Kurve zeigt nach Fumarin deutlich häufigere Ausschläge als die Normalkurve. Es ist also eine geringe Erregung eingetreten.

Nach 1 ccm Fumarinlösung (0,5 %) sieht man keinen Unterschied in den Ausschlägen der normalen Kurve und der nach Fumarin.

Nach 3 ccm derselben Lösung tritt nach anfänglicher Erregung eine deutliche Beruhigung ein. Ein Kontrollversuch mit der gleichen Dosis zeigt dasselbe.

Auf 5 ccm hin war die anfängliche Erregung stark ausgeprägt, aber auch die spätere Beruhigung sehr deutlich; die erstere dauerte etwa 2 Stunden, die Beruhigung fast einen Tag.

---

[11] Dtsch. med. Wschr. **37**, 1462, 1911; Herrmann: Inaug.-Diss. Freiburg i. Br. 1911.

Nach 10 ccm der 0.5 %igen Fumarinlösung subcutan hielt die anfängliche Erregung ebenfalls etwa 2 Stunden vor, ihr folgte eine fast absolute Ruhe, welche erst nach ungefähr 6 Stunden wieder einer Erregung mit starkem Bewegungsdrang wich.

Weiße Mäuse sind am Tage sehr lebhaft, in der Nacht ruhig.

Bei diesen Tieren trat auf 0.5 ccm der 0,5 %igen Fumarinlösung subcutan eine gewisse Beruhigung ein, die aber nicht so ausgesprochen war wie bei den Ratten: erst in der Nacht sind die Mäuse — wie ja auch die unbehandelten — wirklich ruhig.

Einfluß des Fumarins auf den Blutdruck.

Kaninchen, 2500 g, Urethannarkose. Blutdruckversuch. Injektion in die Ohrvene von 0,5 %iger Fumarinlösung.

Zeit Min.	Druck mm Hg	Puls Min.	Atmung Min.	Bemerkungen
0	102	312	130	
1	102	312	120	
2	102	312	120	Fumarin, 1 ccm 0,5 %:
2½				kurze Senkung bis 88 mm
3	93	270	120	
4½	94	270	120	Fumarin, 3 ccm 0,5 %: große Vaguspulse
5½	40	84	36	
6	70	102	20	
9	90	120	42	
10	92	306	84	Plötzlich ganz kleine Pulse
11	94	306	112	Fumarin, 2 ccm 0,5 %: große Vaguspulse
12	56	150	54	
13	48	132	36	
15	94	240	150	Wieder kleine Pulse
15½	87	168	42	Nochmals große Pulse
16	94	270	112	Plötzlich wieder kleine Pulse
16½	94	270	112	Fumarin, 5 ccm 0,5 %: große Pulse
17	52	180	42	
19	86	118	36	
21	92	120	36	
25	74	78	14	
28	62	108	42	
29	65	78	unreg.	29—33 Min. Krämpfe
33	60	126	„	
40	58	126	60	

Der Einfluß des Fumarins auf den Blutdruck ist also gering. Regelmäßig tritt nur jedesmal nach der Injektion eine Vaguserregung auf mit langsamen Pulsen und Absinken des Blutdrucks. Aber schon nach kurzer Zeit erreicht der Blutdruck wieder die alte Höhe. Und selbst im Stadium der Krämpfe ist die Zirkulation noch gut, so daß also eine besondere Kreislaufwirkung dem Fumarin nicht zukommt.

Wirkung des Fumarins auf den Kaninchendarm.

Die Bewegungen des Kaninchendarms wurden auf der Trommel registriert.

Nach 5 Tropfen Fumarinlösung (0,5%) zu 50 ccm Badflüssigkeit wurden die Bewegungen des Dünndarms größer, änderten aber ihre Frequenz nicht. — Nach Auswaschen und erneutem Zusatz von 10 Tropfen Fumarinlösung trat eine Tonuserhöhung auf, die ziemlich stark war und die Bewegungen des Darms erlöschen ließ.

Ein zweiter Versuch verlief ebenso: Auf 5 Tropfen hin Zunahme der Größe der Bewegungen und allmähliches Ansteigen des Tonus unter Kleinerwerden der Ausschläge.

Ein dritter Versuch zeigte dasselbe: Nach 10 Tropfen trat eine starke Tonuszunahme ein, später unter Wiederabsinken des Tonus eine Vergrößerung der Bewegungen. Darauf setzte eine Kontraktur ohne Bewegungen ein, die außerordentlich ausgeprägt war. — Beim Auswaschen löste sich der Tonus sofort, und die Bewegungen begannen wieder in normaler Weise.

Es handelte sich also wie am Herzen auch hier um eine Vaguserregung.

Die Vergiftung ist reversibel, wie an Nerv, Muskel, Herz.

Wirkung auf den Gallenfluß.

Wegen der oben erwähnten (S. 306) Anwendung der Fumaria als Mittel bei Gallen- und Leberleiden wurde die Wirkung des Fumarins auf den Gallenfluß bei der Ratte geprüft.

Ratten von etwa 200 g Gewicht wurden mit Urethan (1 ccm 25% subcutan) narkotisiert. Nach Eröffnung der Bauchhöhle durch queren Schnitt wird in den Choledochus eine stumpfe Metallkanüle eingebunden, die durch einen kurzen Gummischlauch mit einer waagerecht eingespannten Bürette verbunden ist, an der die in kurzen Zeitabständen geflossene Gallenmenge abgelesen wird. Die Eingabe erfolgte mit der Schlundsonde. Wir benutzten also die Methode von Büssemaker[12]. Nach seinen Erfahrungen in unserem Institut bleibt der Gallenfluß mehrere Stunden auf der gleichen Höhe und erfährt durch Wassereingabe (3 ccm) eine ganz geringe Steigerung auf 110%.

Wir haben halbstündig die sezernierte Menge abgelesen.

Ratte g	vorher		Eingabe	halbstündlich in ccm					
210	0,03	0,03	1 ccm 0,5%	0,0	0,0	0,07	0,16	0,08	
150	0,21		2 ccm 0,05%	0,22	0,25	0,24	0,22	0,20	
150	0,21	0,22	1,5 ccm 0,05%	0,27	0,20	0,23	0,21	0,21	0,23
180	0,07		1 ccm 0,05%	0,09	0,08	0,07			

[12] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 512, 1936.

Es ist also ein gallentreibender Einfluß des Fumarins nicht nachzuweisen. Denn nimmt man im ersten Versuch den Durchschnitt der halbstündig geflossenen Menge nach der Eingabe, so beläuft er sich nur auf 0,06 ccm, eine sehr geringe Menge, die freilich über der noch geringeren des Gallenflusses vor der Eingabe liegt. Es scheint eher die Muskelwirkung der großen Gabe (wie am Darm) dabei eine Rolle zu spielen. Wenn also den Fumaria eine Wirkung auf die Galle zukommt, so ist daran das Fumarin unbeteiligt.

Wirkung des Fumarins bei Eingabe per os.

Eine 1400 g schwere Katze erhält mit der Schlundsonde 15 ccm einer 0,5 %igen Fumarinlösung (= 0,125 g). — Nach 30 Minuten wird sie unruhig, speichelt; diese Unruhe nimmt allmählich stark zu, sie miaut fortgesetzt, die Pupillen sind maximal erweitert; ihre Bewegungen werden unsicher, die Hinterbeine sind gespreizt. 1 Stunde nach der Eingabe läuft sie dauernd unsicher umher, hat Halluzinationen, schlägt mit der Pfote, als wolle sie Mäuse fangen. Nach 2 Stunden liegt sie auf dem Bauch mit gespreizten Beinen, starrt in die Ecken. Nach 3 Stunden wirft sie den Kopf zurück, bekommt in Seitenlage Krämpfe, die allmählich wieder schwächer werden, auch die Pupillen verengern sich wieder. Nach 6 Stunden läuft sie noch etwas unsicher umher. Nach 7 Stunden ist sie wieder ruhig und läuft koordiniert.

Ein Kaninchen von 2000 g erhält mit der Schlundsonde ebenfalls 25 ccm einer 0,5 %igen Fumarinlösung (= 0,125 g); es zeigt keine Abweichungen vom normalen Verhalten, weder Erregung noch Beruhigung.

Wirkung am Hund.

Die beruhigende Wirkung müßte sich am Hund in besserer Weise beobachten lassen als bei den Pflanzenfressern und der Katze. Denn auch nach Morphin sehen wir beim Kaninchen Krampfzustände, bei der Katze heftiges Toben und nur beim Hund eine schlafmachende Wirkung.

Es erhält also ein 7000 g schwerer Hund 25 ccm 0,5 %iger Fumarinlösung subcutan. Nach 20 Minuten springt das ruhige, schüchterne Tier umher, bellt, versucht zu beißen, taumelt, kratzt in einer Ecke. Nach 25 Minuten ist die Aufregung noch größer, er bellt Gegenstände an, taumelt stark, gleitet aus. Nach 30 Minuten rollt er beim Versuch zu laufen umher, er liegt auf der Seite, atmet sehr schnell und beißt um sich. Die Pupillen sind maximal erweitert, er speichelt, hechelt, rutscht auf dem Bauch umher, ist sehr unruhig. Nach 1 Stunde bekommt er Nackenkrampf, die Pupillen sind immer noch weit, die Atmung beschleunigt. Nach einer weiteren halben Stunde fängt die Erholung an, er versucht den Kopf zu heben, wenn er sich auch noch nicht aufrichten kann. Er beginnt stark zu zittern. Bald darauf fängt er wieder an zu laufen, wenn auch noch

unsicher. Nach 2 Stunden ist sein Verhalten wieder ruhig, er zittert noch etwas, liegt aber ruhig da, schläft nicht, kann aber wieder koordiniert laufen. Anfangs trat Kotabgang ein, aber kein Erbrechen wie nach Morphin.

Es haben sich also beruhigende Wirkungen am Hund nicht gezeigt, sondern nur starke Erregungszustände mit Halluzinationen und Krämpfen. Auch eine beruhigende Wirkung auf die Atmung wurde vermißt, sie war im Gegenteil äußerst frequent.

Dosen.

Tier	Applikation	g pro Kilo	Bemerkungen
Frosch	subcutan	0,04	Lähmung*
		0,08	„ *
		0,12	„ *
		0,14	„ *
		0,125	Krämpfe und Lähmung
		0,31	„ „ „
Froschherz		0,8	Stillstand, reversibel
Nerv und Muskel		2,5	Lähmung, reversibel
Ratten	intravenös	0,017	Unruhe und Ruhe
		0,036	Krämpfe
		0,086	Tod
	subcutan	0,04	Unruhe und Ruhe
		0,12	„ „ „
		0,208	„ „ „
		0,41	„ „ „
Meerschweinchen	subcutan	0,025	Unruhe*
		0,24	Krämpfe*
		0,4	Tod*
Kaninchen	iutravenös	0,046	Blutdruckversuch*
		0,022	Krämpfe
	per os	0,061	nichts
Katze	intravenös	0,02	Curare, daher nichts*
		0,027	Krämpfe*
	per os	0,088	Krämpfe, starke Unruhe
Maus	subcutan	0,125	Unruhe und Ruhe
Kaninchendarm		0,025	Erregung
		0,05	Erregung
Hund	subcutan	0,018	Erregung, Krämpfe

* = Angaben nach Engel

Ergebnisse.

Neben der narkotischen Wirkung, wie sie Engel beim Frosch nach Protopin beobachtete, zeigte sich in unseren Versuchen am Frosch mit Fumarin, welches mit Protopin identisch ist, eine stark krampferregende Eigenschaft; sie führt zu spontanen Krämpfen.

Am isolierten Froschherzen sieht man nach hohen Konzentrationen ein starkes Absinken der Kontraktionshöhe; diese Vergiftung ist sofort und vollständig durch Ringerspülung zu beseitigen.

Ein isolierter Nerv oder Muskel des Frosches, in Fumarinlösung hineingehängt, verliert die Leitfähigkeit bzw. die Erregbarkeit. Auch diese Schädigung tritt bei hohen Konzentrationen auf und ist nach Auswaschen sehr gut reversibel.

Engel sah am Warmblüter nie eine narkotische Wirkung des Protopins. In unseren Versuchen zeigt sich an Ratten nach intravenöser Injektion von Fumarinlösung in kleinen Dosen eine gewisse Beruhigung, in größeren aber treten starke Erregungserscheinungen, Trismus, Opisthotonus, Zwangsbewegungen und heftigste Krämpfe auf.

Bei genauer Prüfung jedoch tritt anfangs immer Unruhe auf. Dehnt man, um dies zu erkennen, die Versuche über längere Zeit aus und gibt den Ratten die Lösung subcutan, so kann man durch Aufschreiben der Erschütterungen des Käfigs das Verhalten der Tiere beurteilen; dann sieht man nach anfänglicher Bewegungszunahme ein langdauerndes Stadium der Beruhigung. Beides, Anfangserregung und Beruhigung, nimmt mit steigender Dosis zu. Deutlich bemerkbar ist die Beruhigung erst nach ausgeprägtem Erregungsstadium.

Die beruhigende Wirkung müßte sich am deutlichsten am Hund beobachten lassen, da auch nach Morphin nur der Hund in Schlaf oder Betäubung verfällt, während die Pflanzenfresser Krämpfe und die Katze starke Erregung nach Morphin zeigt. Aber auch am Hund traten heftige Erregungserscheinungen auf, Unruhe, Halluzinationen, ja Krämpfe; daneben entwickelte sich ein Lähmungszustand, der hauptsächlich die Koordination betraf, aber von heftigen Laufbewegungen begleitet war. Auch nach der Erregung trat keine Spur von Schlaf ein.

Auf den Kreislauf des Kaninchens wirkt Fumarin wenig. Es tritt jedesmal nach der Injektion eine Vagusreizung auf, die den Blutdruck senkt und zu langsamen Pulsen führt; diese Vaguserregung löst sich dann wieder plötzlich. Auch bei Steigerung der Dosis zu krampfmachender Höhe wird der Blutdruck außerordentlich wenig beeinflußt. Auf Herz und Gefäße ist also die Wirkung des Fumarins gering.

Am isolierten Darm führt Fumarin zu einer Vergrößerung der Kontraktionsausschläge und allmählichem starken Steigen des Tonus unter Kleinerwerden der Bewegungen. Diese Kontraktur löst sich sofort auf Auswaschen, und es setzen wieder normale Bewegungen ein. Die Vergiftung ist also gut reversibel, wie auch an Nerv, Muskel und Herz. — Es kommt also auch am Darm wie am Herzen zu einer Vaguserregung.

Da Fumaria als Mittel bei Gallenleiden verwandt wird, wurde die Wirkung auf die Gallebildung an der Ratte untersucht. Fumarin hat aber keinen Einfluß auf die Sekretion von Galle; wenn die gallentreibende

Eigenschaft der Fumaria zu Recht angenommen wird, so hat das Fumarin daran keinen Anteil.

Schluß.

Es besitzt also das Fumarin eine starke krampferregende Wirkung, die sich beim Frosch, bei der Ratte, dem Kaninchen, der Katze und dem Hund zeigt. Eine beruhigende Wirkung ist nur wenig ausgesprochen und tritt bei der Ratte nur dann deutlich in die Erscheinung, wenn auch die Anfangserregung stark ist. Engel, der das mit Fumarin identische Protopin untersuchte, hat am Warmblüter niemals eine solche beruhigende Wirkung gesehen. Auch am Frosch ist sie nur in Form einer Lähmung vorhanden, besonders deutlich, wenn Krämpfe vorhergegangen sind. Das Tier aber, an welchem die beruhigende oder schlafmachende Wirkung am deutlichsten erwartet werden müßte, der Hund, wies nur Aufregungszustände, Halluzinationen, Krämpfe neben Lähmungserscheinungen auf, aber keine Spur von Beruhigung, auch nicht als Nachwirkung der Aufregung.

Die periphere Wirkung auf isolierte Organe ist gering, tritt nur in hohen Konzentrationen am isolierten Organ auf; sie besteht in einer Lähmung des Nerven, des Muskels und des Herzens, die nach Auswaschen schnell und vollständig zu beheben ist.

Auf den Kreislauf ist die Wirkung gering; es kommt jedesmal nach der Injektion zu einer Vaguserregung, die dann plötzlich wieder aufhört.

Am Darm tritt eine Vermehrung der Bewegungen unter Erhöhung der Einzelkontraktionen auf; daneben stieg der Tonus des Darms stark an. Auf der Höhe des Tonus können die Darmbewegungen aufhören. Auch diese Vergiftung, die wohl als Vaguserregung zu deuten ist, hört nach Auswaschen auf, die normale Darmtätigkeit mit normalem Tonus stellt sich wieder her. Es ist also auch diese Vergiftung gut reversibel.

Der Gallenfluß wird bei der Ratte durch Fumarin nicht beeinflußt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Hamburg.

Zur Pharmakologie des Chenopodiumöls.

Von

H.-A. Oelkers.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. Mai 1940.)

Als der wurmwirksame Bestandteil des Chenopodiumöls gilt im allgemeinen das Ascaridol, ein Peroxyd, das durchschnittlich zu 60% (45 bis 77%[1]) im Wurmsamenöl enthalten ist. Neben dem Ascaridol finden sich im Chenopodiumöl noch andere Kohlenwasserstoffe, und zwar vor allem eine nicht unbeträchtliche Menge [(etwa 22%[2])] p-Cymol, das ebenfalls wurmwirksam ist. Die Angaben über die Stärke dieser Wirkung lauten indessen recht verschieden. So sollen nach Hall und Hamilton[3] die niedrig siedenden Anteile des Chenopodiumöls (im wesentlichen p-Cymol) etwa die gleiche Wirkung auf Spulwürmer besitzen wie Ascaridol, während Henry und Paget[4] und ebenso Smillie und Pessoa[5] die Überlegenheit des Ascaridols über andere Bestandteile des Chenopodiumöls insbesondere bei der Vertreibung von Anchylostomum duodenale betonen. Nach Versuchen von Hinz und Silberstein[6] in vitro am Muskelpräparat des Blutegels[7] soll jedoch p-Cymol in ähnlicher Weise und Stärke erregend auf die Wurmmuskulatur wirken wie Ascaridol.

Da ferner von den verschiedenen Untersuchern angegeben wird, daß p-Cymol weniger giftig für Mensch und Säugetier ist als Ascaridol und sich im Gegensatz zu Ascaridol aus einheimischen Drogen gewinnen sowie auch relativ billig synthetisch herstellen läßt, so wurde die Verwendung dieses Körpers von Hinz und Silberstein zu Wurmkuren empfohlen.

Praktische Erfahrungen mit der Verwendung des reinen p-Cymols als Anthelminthicum scheinen indessen — abgesehen von den obenerwähnten Untersuchungen von Hall und Hamilton[3], von Henry und Paget[4] und von Smillie und Pessoa[5], bei denen aber wahrscheinlich kein reines p-Cymol gebraucht wurde, nicht vorzuliegen. Dagegen wird ein neben p-Cymol noch Thymol, Kamala und Rizinusöl enthaltendes Präparat unter dem Namen „Helmofix" (Chem. Fabrik Marienfelde G. m. b. H.) in den

[1] Schimmel u. Co., Ber. 1908, I; Nelson, C. **4**, 575 (1920). — [2] Schmidt, E.: Pharmaz. Chem. II, 1432 (1923). — [3] Hall, M. C., u. H. C. Hamilton: J. Pharmacol. (Am.) **11**, 231 (1918). — [4] Henry, A. H., u. Humphrey Paget: Pharmaceut. J. a. Pharmacist 1921 (Referat). — [5] Smillie, W. G., u. S. B. Pessoa: J. Pharmacol. (Am.) **24**, 359 (1925). — [6] Hinz u. Silberstein: Arch. wiss. u. prakt. Tierhk. **52**, 1 (1925). — [7] Führer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 81 (1917).

Handel gebracht und als wirksam gegen alle Arten von Darmparasiten empfohlen (vgl. z. B. Janson[8]). Ein ähnliches Präparat „Valutin" wird in der Veterinärmedizin anscheinend mit gutem Erfolg gebraucht (vgl. z. B. Arendsee und Grupe[9]).

Da die anthelmintische Wirksamkeit von Kamala, das, wie erwähnt, in dem Präparat enthalten ist, nur schwach und unzuverlässig ist (vgl. z. B. Punzel[10]), so muß angenommen werden, daß die Wurmwirksamkeit von Helmofix bzw. Valutin in der Hauptsache auf dem Gehalt an p-Cymol und an Thymol beruht.

Die starke Wirkung des Thymols gegen die verschiedenen im Darm von Mensch und Säugetier schmarotzenden Würmer ist bekannt. Nach den umfassenden Untersuchungen von Schüffer und Verwoort[11] an 1457 wurmkranken Patienten steht es dem Chenopodiumöl in seiner Wirksamkeit gegen Anchylostomum und Ascariden nur wenig nach. Es schien daher interessant, das dem Thymol (Methylisopropylphenol) ja chemisch nahestehende Cymol (Methylisopropyltoluol) in vitro mit der Wirksamkeit von Thymol sowie mit der des Ascaridols und des Chenopodiumöls auf Würmer und Wurmmuskeln zu vergleichen.

Die Versuche wurden zunächst an Enchytraeiden (Enchytraeus albus) in ähnlicher Weise wie von Jores und Wolter[12] in der Weise vorgenommen, daß je 6 der etwa 12—15 mm langen Tiere in kleine, luftdicht verschließbare Gefäße, in denen sich die zu prüfenden Substanzen in Kaltblüterringerlösung gelöst oder emulgiert befanden, eingesetzt wurden. Kontrollversuche mit reiner Ringerlösung zeigten, daß die Enchytraeiden hierin ziemlich lange Zeit (10—14 Tage) am Leben bleiben. In den Lösungen, die wurmwirksame Stoffe enthalten, ist die Lebensdauer der Enchytraeiden je nach der Natur und der Konzentration dieser Substanzen verkürzt. Ferner lassen sich oft bereits wenige Minuten nach dem Einbringen der Würmer in derartige Lösungen oder Emulsionen deutliche Zeichen von Lähmung oder Erregung feststellen.

Die Versuche ergaben nun, daß Ascaridol, p-Cymol und Thymol bereits in sehr niedriger Konzentration (0,5—1 mg%) und in wenigen Minuten Änderungen in den Lebensäußerungen der Enchytraeiden verursachen. Thymolkonzentrationen von 0,5—1 mg% an, p-Cymolkonzentrationen von 2 mg% an, bewirken innerhalb von 5—10 Minuten nach kurzdauernder Erregung Erscheinungen von Lähmung, Ascaridolkonzentrationen von 1—2 mg% an in der gleichen Zeit Erregung. Nach einiger Zeit kommt es allerdings auch beim Ascaridol zu Lähmungserscheinungen, während bei Cymol gelegentlich nach längerer Einwirkungszeit (1—2 Stunden) nochmals kurzdauernde Erregungserscheinungen auftreten können.

---

[8] Janson, Ph.: Fschr. Ther. **11**, 617 (1935). — [9] Arendsee, W., u. G. Grupe: Tierärztl. Rundschau **1928**, Nr. 19. — [10] Punzel, W.: Dissertation, Braunschweig 1936. — [11] Schüffer, W., u. H. Verwoort: Münch. med. Wschr. **1913**, S. 129. — [12] Jores u. H. Wolter: Klin. Wschr. **1939**, S. 885.

Vergleicht man die Konzentrationen, die innerhalb von 2 Stunden völlige Lähmung der Enchytraeiden herbeiführen, so betragen diese für Thymol 4—5 mg%, für Ascaridol 5—6 mg% und für p-Cymol 6—7 mg%. Chenopodiumöl wirkte etwas schwächer. Erst in Konzentrationen von 5 mg% an waren nach längerer Einwirkungszeit Lähmungserscheinungen der Enchytraeiden festzustellen. Konzentrationen von 10—12 mg% führten zu vollständiger Lähmung innerhalb von 2 Stunden.

Am giftigsten ist also nach diesen Untersuchungen für Enchytraeiden Thymol; Ascaridol und p-Cymol stehen ihm in dieser Beziehung nahe, während das geprüfte Chenopodiumöl nur etwa die Hälfte der Wirksamkeit des Thymols aufweist.

Die bei diesen Versuchen verhältnismäßig geringe Wirksamkeit des Chenopodiumöls dürfte damit zusammenhängen, daß Chenopodiumöl sich etwas schlechter als die anderen untersuchten Substanzen in Lösung bzw. Emulsion bringen läßt.

Am leichtesten gelingt dies bei Thymol, dessen Wasserlöslichkeit ja verhältnismäßig gut ist. Wir stellten uns von diesem Körper eine 80mg%ige Lösung her, indem die erforderliche Thymolmenge zunächst in wenig Alkohol gelöst und darauf mit Wasser bzw. Ringerlösung verdünnt wurde. Von dieser Lösung, deren Alkoholgehalt 2,5% betrug, wurden dann die benötigten Verdünnungen hergestellt. Vom Ascaridol, p-Cymol und Chenopodiumöl wurde die für jede der zu prüfenden Konzentrationen erforderliche Menge mittels Kapillarpipette in einen Meßzylinder mit eingeschliffenem Stopfen pipettiert, die 5—10fache Menge Alkohol hinzugegeben, zu diesen Lösungen dann Ringerlösung bis zu einem bestimmten Volumen zugesetzt und kräftig umgeschüttelt. Der Alkoholgehalt der fertigen Lösungen bzw. Emulsionen, die unmittelbar vor Versuchsbeginn hergestellt werden, betrug 0,1 bis höchstens 0,4%. Dieser Umstand ist wichtig, da es sich bei Kontrollversuchen mit alkoholhaltigen Ringerlösungen herausstellte, daß Enchytraeiden von einem Alkoholgehalt von 3% an Lähmungserscheinungen zeigen und nach etwa 36—48 Stunden in derartigen Lösungen sterben.

Wichtig ist, daß die Versuche in verschließbaren Gefäßen (z. B. in Wägegläschen mit eingeschliffenem Deckel, oder auch in den Meßzylindern selbst) vorgenommen werden, da anderenfalls Konzentrationsminderungen — insbesondere bei dem niedrig siedenden p-Cymol — schon nach kurzer Versuchsdauer auftreten.

Ferner ist bei derartigen Versuchen zu beachten, daß die Empfindlichkeit der Enchytraeiden gegen Anthelminthica bei längerer Aufbewahrung unter nicht optimalen Lebensbedingungen zunimmt. Es ist daher notwendig, die zu vergleichenden Mittel gleichzeitig und an Enchytraeiden der gleichen Zucht auszuwerten.

Weitere Versuche wurden an Pferdespulwürmern (Ascaris megalocephala) vorgenommen. Die Spulwürmer wurden bei der Reinigung der Därme notgeschlachteter Pferde in warmem Wasser gesammelt und dann möglichst rasch in körperwarme Froschringerlösung eingebracht, in der

die Tiere im Brutschrank 2—3 Tage am Leben zu bleiben pflegen. Für die vergleichende Prüfung der drei Mittel wurden stets ganz frische Würmer benutzt. Die verschiedenen Mittel befanden sich bei diesen Versuchen in den geeigneten Konzentrationen in mit Froschringerlösung gefüllten Meßzylindern (500 ccm) mit eingeschliffenem Stopfen.

Auch bei diesen Versuchen hatte Thymol die stärkste Wirkung. Eine 20 mg%ige Lösung wirkte bereits innerhalb von $1^1/_2$—2 Stunden tödlich. Kurze Zeit nach dem Einbringen in eine derartige Lösung führten die Ascariden sehr lebhafte Bewegungen aus. Dieser Erregungszustand pflegt aber nur wenige Minuten anzudauern und die Tiere scheinen dann fast völlig gelähmt. Krampfartige kleine Zuckungen in immer längeren Abständen zeigen, daß das Leben noch nicht völlig erloschen ist. Frühestens nach 1 Stunde, meist aber erst nach 2 Stunden, seltener erst nach $2^1/_2$ Stunden sind keine Lebenszeichen mehr zu erkennen und die Tiere erholen sich dann, in frische Ringerlösung gebracht, nicht wieder.

Ähnlich, aber erheblich langsamer ist der Vergiftungsverlauf in einer 20 mg%igen Emulsion von p-Cymol. Das anfängliche, meist sehr heftige Erregungsstadium pflegt 2—4 Stunden zu dauern und erst nach 7 bis 8 Stunden tritt vollständige Lähmung und der Tod der Tiere ein. Bei der doppelten p-Cymol-Konzentration dauert das Erregungsstadium gewöhnlich nur 30—60 Minuten; danach tritt nahezu völlige Lähmung ein. Es sind jedoch gewöhnlich noch 4—6 Stunden lang vereinzelte krampfartige Zuckungen zu erkennen.

Ascaridol wirkt ähnlich wie bei Enchytraeiden auch bei Ascariden bei äußerlicher Betrachtung stärker erregend als p-Cymol. Dies fällt besonders bei niedrigen Konzentrationen (5—10 mg%) auf, die erst nach längerer Einwirkungsdauer tödlich wirken. Eine 20 mg% Ascaridol enthaltende Ringerlösung bewirkt ebenfalls zunächst ein starkes Erregungsstadium, das $^1/_2$—1 Stunde anzudauern pflegt; danach treten Lähmungserscheinungen auf, und nach 2—3 Stunden pflegen sämtliche Ascariden tot zu sein.

Auch Chenopodiumöl wirkt verhältnismäßig stark erregend auf Ascariden und ähnelt hierin dem Ascaridol. Konzentrationen bis zu 20 mg% werden jedoch lange ertragen und wirken erst im Verlauf von etwa 8—10 Stunden nach vorangehendem Lähmungsstadium tödlich (vgl. auch Schüffer und Verwoort[11]).

Der Ausfall der Versuche mit Ascariden bestätigt mithin das an Enchytraeiden gewonnene Ergebnis. Ascariden sind zwar etwas resistenter gegen die geprüften Anthelminthica als Enchytraeiden, doch wirkt auch hier Thymol bereits in kleinen Konzentrationen auffällig rasch lähmend, während Ascaridol und p-Cymol zunächst ein ausgesprochenes Erregungsstadium hervorbringen. Dieses geht bei p-Cymol eher als bei Ascaridol in ein von gelegentlichen krampfartigen Zuckungen unterbrochenes Lähmungsstadium über, das jedoch bei Ascaridol schneller durch den Tod der

Würmer beendet wird als bei p-Cymol. Im ganzen gesehen erscheint nach diesen Versuchen p-Cymol etwas weniger wirksam als Ascaridol und Thymol, die in diesen Versuchen annähernd die gleiche Giftigkeit für Enchytraeiden und Ascariden besitzen.

Von Hinz und Silberstein [5] wurden p-Cymol, Ascaridol und Chenopodiumöl am Muskelpräparat des Blutegels miteinander verglichen. Hierbei ergab sich, daß alle drei Mittel erregend auf die Wurmmuskulatur wirken. Die Autoren prüften jedoch anscheinend nur eine und noch dazu ziemlich hohe Konzentration (40 mg%) der verschiedenen Mittel und machen keine näheren Angaben darüber, wie diese Lösungen bzw. Emulsionen hergestellt wurden. Aus den in dieser Arbeit veröffentlichten Kurvenbeispielen scheint ferner hervorzugehen, daß Chenopodiumöl und Ascaridol, wenn überhaupt, nur eine sehr schwache Erregung der Wurmmuskulatur verursachen. Infolgedessen erschien es wünschenswert, die Frage der Wirkung dieser Mittel auf die Blutegelmuskulatur neuerlich zu untersuchen.

Diese Versuche wurden zunächst in gleicher Weise wie von Hinz und Silberstein am Muskelpräparat des Blutegels (Führer [7]) vorgenommen.

Da die zu prüfenden Mittel nur wenig wasserlöslich sind, so erwies es sich als vorteilhaft, das mit der Schreibvorrichtung verbundene, vom Bauchmark befreite Muskelstück in einem größeren Vorratsgefäß in 100 ccm Kaltblüterringerlösung, die schwach mit Sauerstoff durchströmt wurde, unterzubringen. Es wurde dann abgewartet, bis das Präparat einige Zeit hindurch eine horizontale oder doch nur noch wenig absinkende Linie aufgezeichnet hatte, was durchschnittlich nach $1^1/_2$—2 Stunden der Fall war. Die für die herzustellenden Konzentrationen (1—50 mg%) erforderlichen Volumina der verschiedenen Verbindungen wurden dann mittels Kapillarpipette in 250 ccm fassende Meßzylinder mit eingeschliffenem Stopfen pipettiert, die 8—10fache Menge Alkohol und danach 200 ccm Froschringerlösung hinzugegeben. Nach kräftigem Durchschütteln wurden dann diese Emulsionen dem Vorratsgefäß, in dem sich das Muskelpräparat befand, zugesetzt. Der durchperlende Sauerstoff sorgte für rasche Mischung mit der bereits in dem Gefäß befindlichen Ringerlösung.

Bei diesen Versuchen stellte es sich zunächst heraus, daß der Blutegelmuskel durch erheblich niedrigere Konzentrationen von p-Cymol in einen Erregungszustand gebracht wird als vom Ascaridol. Die geringste Konzentration an p-Cymol, die eine deutliche Wirkung hervorbrachte, war 3 mg%. Kurz nach der Zugabe dieser Menge kam es gewöhnlich zu einem langsamen Tonusanstieg. Nach etwa 30 Minuten begann dann der Tonus langsam wieder abzunehmen und hierbei traten — durchschnittlich 40 Minuten nach der p-Cymolzugabe — anfänglich kleine, später größere und rasch aufeinanderfolgende Kontraktionen auf. Das Maximum der Wirkung findet sich gewöhnlich erst 2—3 Stunden nach der p-Cymolzugabe. Später steigt der Tonus des Muskelstücks gewöhnlich langsam

wieder an und die Kontraktionen beginnen gleichzeitig an Stärke und Zahl nachzulassen. Es finden sich jedoch noch 7—8 Stunden nach der p-Cymolzugabe kräftige Kontraktionen. Die Abb. 1 gibt den Verlauf einer derartigen Kurve $3^1/_2$—5 Stunden nach der p-Cymolzugabe wieder.

Nimmt man höhere p-Cymolkonzentrationen (20—40 mg%), so kommt es nach flüchtigem und geringem Tonusanstieg zu deutlichem Tonusabfall, zu dessen Beginn (durchschnittlich 20 Minuten nach der Zugabe) rasch stärker werdende Muskelzuckungen auftreten (Abb. 2). Die Erregung des Muskels erreicht jedoch gewöhnlich nicht den Umfang der nach Zugabe geringerer Konzentrationen (3—12 mg%) auftretenden und hält nur 2—4 Stunden an. Danach ist der Muskel gelähmt und läßt sich durch weitere p-Cymolgaben oder durch andere Muskelgifte nicht zu neuen Kontraktionen anregen.

Die Wirkung des Ascaridols auf den Blutegelmuskel war erheblich geringer als die des p-Cymols. Erst Konzentrationen von mehr als 10 mg% wirkten erregend, und eine deutliche Wirkung war zumeist erst durch wesentlich höhere Konzentrationen (20—40 mg%) zu erzielen. Kurze Zeit nach der Zugabe dieser Ascaridolmengen begann der Muskeltonus langsam anzusteigen und durchschnittlich nach 15—20 Minuten zeigten sich Kontraktionsbewegungen, die jedoch erheblich langsamer und schwächer waren als die nach p-Cymolzugabe auftretenden (vgl. Abb. 3).

Nach weiteren 20—30 Minuten pflegte die Zahl der Muskelkontraktionen, die gleichzeitig kleiner wurden, etwas zuzunehmen. Etwa $1^1/_2$—$2^1/_2$ Stunden nach der Zugabe von Ascaridol (40 mg%) hörten die Muskelzuckungen wieder auf, doch kam es im Laufe der nächsten Stunden oft noch zu einer weiteren Tonuszunahme, wobei meist ganz vereinzelte schwache Kontraktionsbewegungen sichtbar wurden.

Das Bild der p-Cymolerregung des Blutegelmuskels ist also ein völlig anderes als das der Ascaridolwirkung, wie der Vergleich der Abb. 1 bis 3 deutlich zeigt. Vor allem hat man den Eindruck, daß Ascaridol weit schwächer auf den Muskel wirkt als p-Cymol. Dieser Beobachtung entsprechend ergaben sich bei den Versuchen mit Chenopodiumöl (10 bis 40 mg%) Kurvenbilder, die mehr denen des p-Cymols entsprachen. Es fehlte jedoch die hier zu beobachtende tonussenkende Wirkung.

Einige zum Vergleich mit Thymol vorgenommene Versuche zeigten, daß diese Verbindung ebenfalls ein sehr starkes muskelerregendes Gift ist. Bereits Konzentrationen von 1 mg% waren nach längerer Einwirkungszeit wirksam. Zu besonders starker Erregung der Muskelpräparate führten Konzentrationen von 3—5 mg%.

Hohe Thymolkonzentrationen (20—40 mg%) führen zu mäßiger Tonussteigerung mit nur relativ kleinen, in größeren Zwischenräumen auftretenden Muskelzuckungen. Nach $1^1/_2$—2 Stunden kommt es nach vorhergehender Tonussenkung zur völligen Lähmung des Muskelstücks.

Weitere Versuche wurden am entnervten Ringmuskelpräparat des Regenwurms nach Trendelenburg[13] vorgenommen. Das Präparat

Abb. 1. Blutegelmuskel. 3½ Std. nach der Zugabe von p-Cymol (Konzentration 3 mg%). Zeitmarkierung 20 Sek.

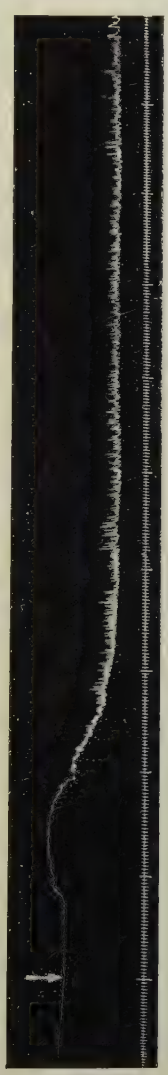


Abb. 2. Blutegelmuskel, bei ▼ p-Cymol (Konzentration 30 mg%), Zeitmarkierung 20 Sek. und 10 Min.

Abb. 3. Blutegelmuskel, bei ▼ Ascaridol (Konzentration 40 mg%), Zeitmarkierung 20 Sek. und 10 Min.

[13] Trendelenburg, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **79**, 190 (1916).

zeigte sich als deutlich empfindlicher gegen die geprüften Substanzen als der Blutegelmuskel: Die Wirkungen traten sehr viel rascher, stärker und bei niedrigeren Konzentrationen ein. Ein Nachteil des Regenwurmpräparats ist jedoch, daß fast alle Präparate, im Gegensatz zu vollkommen vom Bauchmark befreiten Blutegelpräparaten, bei Belastung kleine Kontraktionsbewegungen ausführen (vgl. Straub[14]). Bei den wenigen Regenwurmmuskelstücken, bei denen dies nicht der Fall war, wirkten jedoch die geprüften Anthelminthica nicht schwächer erregend als bei den anderen. Im übrigen war auch an diesem Präparat p-Cymol stärker wirksam als Ascaridol, da vom p-Cymol 0,5—1,0 mg%, vom Ascaridol 3—4 mg% die untersten Grenzen waren, die eine erregende Wirkung erkennen ließen. Eigenartigerweise führte aber p-Cymol hier gewöhnlich zu einer erheblichen Tonussteigerung.

Das Maximum der Wirkung des p-Cymols pflegt bei Konzentrationen von 2,5—4 mg% aufzutreten. Hier ist die Erregung oft so heftig, daß die Registrierung der überaus schnellen und kräftigen Zuckungen unmöglich wird. Bei noch höheren Konzentrationen (10—40 mg%) kommt es nach kurzer, verhältnismäßig schwacher, mit Tonuszunahme verbundener Erregung des Muskels bald zur Tonussenkung und Lähmung.

Ascaridol wirkt auch am Regenwurmmuskel schwächer als p-Cymol. Es gelingt zwar bereits durch Konzentrationen von 3—4 mg% eine leichte Erregung herbeizuführen, doch kommt es zu deutlichen Wirkungen erst bei Anwendung etwas höherer Konzentrationen (7–10 mg%). Im Gegensatz zu den Beobachtungen am Blutegelmuskel findet sich hier gewöhnlich eine Tonussenkung. Die Kontraktionen der Muskulatur erfolgen auch an diesem Präparat erheblich langsamer und schwächer als bei den Versuchen mit p-Cymol.

Höhere Ascaridolkonzentrationen (10—40 mg%) führen zu wesentlich schwächeren Muskelzuckungen, die aber schneller aufeinanderfolgen. Die Tonussenkung ist meist sehr ausgesprochen.

Die Wirkung des Chenopodiumöls entspricht in Konzentrationen von 8—15 mg% weitgehend der des p-Cymols, doch sind die Kontraktionen weniger heftig und es fehlt gewöhnlich eine stärkere Tonussteigerung.

Bei höheren Konzentrationen an Chenopodiumöl (20—40 mg%) erhält man dagegen Kurvenbilder, die mehr denen des Ascaridols ähneln, indem kleinere Zuckungen verhältnismäßig rasch aufeinanderfolgen. Indessen bestehen doch Unterschiede, da es einmal gewöhnlich zu einer deutlichen Tonuszunahme des Muskelstückes kommt und da ferner die Zuckungen doch etwas kräftiger und rascher einander folgend auftreten als bei den entsprechenden Ascaridolkonzentrationen.

Hierbei mag erwähnt werden, daß sich sowohl am Blutegel- wie am Regenwurmmuskel durch geeignete Konzentrationen einer Mischung von 6 Teilen Ascaridol

[14] Straub, W.: Pflügers Arch. **79**, 379 (1900).

mit 2 Teilen p-Cymol die gleichen Kurvenbilder erzeugen ließen wie durch Chenopodiumöl, das ja — wie oben erwähnt — etwa 60% Ascaridol und 20% p-Cymol enthalten soll.

Die geschilderten Versuche am Blutegel- und Regenwurmmuskelpräparat beweisen in Übereinstimmung mit den Befunden an Enchytraeiden und Ascariden eine starke Wirksamkeit von Ascaridol, p-Cymol, Chenopodiumöl und Thymol. Der Unterschied in der Wirkungsstärke, der nach den Toxizitätsprüfungen an den genannten Wurmarten nicht erheblich ist, erscheint allerdings nach der Auswertung am nervenfreien Muskelpräparat vom Blutegel und vom Regenwurm etwas größer. Im Gegensatz zu den Befunden am lebenden Wurm, die für eine leichte Überlegenheit von Ascaridol über p-Cymol sprachen, ist hier p-Cymol deutlich stärker wirksam als Ascaridol.

Der Charakter der Wirkung aller 4 Mittel erscheint nach den Befunden an Enchytraeiden und Ascariden im wesentlichen gleichartig: Es kommt zu einer Erregung der Würmer, die — je nach der Konzentration der betreffenden Präparate — mehr oder weniger schnell in Lähmung übergeht.

Bei Thymol ist allerdings die erregende Wirkung weniger ausgesprochen und die Lähmung überwiegt bereits bei niedrigen Konzentrationen. An den beiden Muskelpräparaten vom Regenwurm und Blutegel wirkt jedoch auch Thymol in niedrigen Konzentrationen ausgesprochen erregend. Es wird in dieser Beziehung vom p-Cymol noch übertroffen, während Ascaridol, das am lebenden Wurm von den 4 Mitteln am stärksten erregend wirkt, am Muskelpräparat nur verhältnismäßig schwach wirksam ist. Es dürfte sich daher bei der erregenden Wirkung dieses Stoffes am ganzen Wurm wohl zum Teil um eine Wirkung auf das Nervensystem handeln.

Interessant ist ferner der Befund, daß die vier geprüften Anthelminthica das Muskelpräparat zu qualitativ ganz verschiedenen Erregungsbildern veranlassen. Besonders groß ist hier der Unterschied zwischen den durch Ascaridol verursachten verhältnismäßig trägen und kleinen Zuckungen und den kräftigen, oft in Serien rasch aufeinanderfolgenden Kontraktionen, die durch p-Cymol verursacht werden.

Einige Versuche am isolierten Kaninchendarm (nach Magnus) zeigten, daß die 4 Mittel sich auch hier in ihrer Wirkung deutlich unterscheiden: Ascaridol, Thymol und besonders Chenopodiumöl wirken bereits in Konzentrationen von 5—10 mg% tonussenkend und hemmen die Pendelbewegungen. Höhere Konzentrationen führen zu völliger Erschlaffung und Lähmung des Darms, die weder durch sonst stark wirksame Dosen von Bariumchlorid, noch von Pilocarpin oder Azetylcholin beeinflußt werden können. Im Gegensatz hierzu wirkt p-Cymol in mittleren Konzentrationen (20—50 mg%) tonussteigernd, wobei ebenfalls die Kontraktionsbewegungen des Darms abnehmen. Papaverin, Atropin und Adrenalin wirken hierbei schwächer als sonst und meist nur vorübergehend tonussenkend.

In der Literatur werden zur Auswertung von Wurmmitteln außer verschiedenen Würmern auch Fische als geeignete Testtiere empfohlen. So benutzte z. B. Wasicky[14] mit gutem Erfolg kleine Fische aus den Gattungen Gobio, Carassius, Phoxinus und Scardinus zur Wertbestimmung von Filix mas.

Da ein derartiges Verfahren infolge seiner Einfachheit besonders vorteilhaft erscheint, entschlossen wir uns, Ascaridol, p-Cymol, Chenopodiumöl und Thymol an Lebistes reticulatus („Guppyi"), der sich infolge der leichten Beschaffbarkeit und des geringen Pflegebedürfnisses als Laboratoriumstier besonders eignet, vergleichend auszuwerten.

Die zu prüfenden Verbindungen wurden bei diesen Versuchen in den erforderlichen kleinen Mengen zunächst in wenig Alkohol gelöst und dann durch Zusatz von Leitungswasser unter kräftigem Schütteln emulgiert bzw. gelöst. Sodann wurde auf 200 ccm mit stubenwarmem Leitungswasser aufgefüllt, nochmals kräftig durchgeschüttelt und je 6 der kleinen Fische in die Lösungen bzw. Emulsionen eingesetzt. Die Zeit bis zum Auftreten von ataktischen Bewegungen, bis zum Einnehmen der Seitenlage und bis zum Tode wurde notiert.

Die folgende Tabelle zeigt das Ergebnis.

Tabelle 1. Konzentration in mg%.

	Konzentration in mg%			
	Ascaridol	p-Cymol	Chenopodiumöl	Thymol
Ataktische Bewegungen innerhalb von 10 Min.	8	1,0	7,5	1,0
Seitenlage innerhalb $^1/_2$ Std.	15	1,3	10	1,5
Tod innerhalb von 1 Std.	20	2,5	12	3,0

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß p-Cymol in 8—10fach kleineren Konzentrationen auf Lebistes retuculatus wirksam ist als Ascaridol. Es wird an Giftigkeit vom Thymol erreicht, während die Wirkung des Chenopodiumöls die des Ascaridols nur wenig übertrifft.

Das Ergebnis dieser Versuche zeigt also im Gegensatz zu den Befunden an Würmern eine erheblich größere Wirksamkeit von p-Cymol als von Ascaridol. Auch Thymol ist hiernach 7—10mal giftiger als Ascaridol, ein Befund, der nicht nur den Ergebnissen der an Enchytraeiden und Ascariden in vitro vorgenommenen Untersuchungen, sondern auch den Erfahrungen der Praxis widerspricht. Bemerkenswert ist ferner, daß für den Lebistes reticulatus Chenopodiumöl etwas giftiger ist als Ascaridol. Lüdtke[15] fand zwar am Stichling Chenopodiumöl fast ebenso wirksam wie Ascaridol der Firma Schimmel & Co. und etwas schwächer wirksam als Ascaridol der Firma Bayer, doch ist dies in Anbetracht der hohen

[14] Wasicky, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **97**, 454 (1923). — [15] Lüdtke, H.: Med. Klin. **1933**, S. 611.

Giftigkeit des p-Cymols, das ja zu etwa 22% im Chenopodiumöl enthalten ist, nicht sehr wahrscheinlich. Vielmehr war der von uns erhobene Befund, wonach Chenopodiumöl etwas giftiger für Fische ist als Ascaridol, zu erwarten.

Hierbei sei noch kurz darauf hingewiesen, daß sich die verhältnismäßig große Giftigkeit von p-Cymol auch darin äußerte, daß die einmal in ein narkotisches Stadium mit Seitenlage gelangten Fische sich, in frisches Wasser gebracht, nur sehr langsam wieder erholten. Ein Teil der Tiere starb im Laufe der nächsten 24 Stunden. Im Gegensatz hierzu erfolgte bei den mit Ascaridol behandelten Tieren das Erwachen auch aus tiefster Narkose schon wenige Minuten nach dem Einbringen in frisches Wasser. Die Fische schwammen dann noch einige Zeit stark ataktisch umher, machten aber späterhin nach etwa 1 Stunde wieder einen völlig normalen Eindruck.

Da die Lösungen bzw. Emulsionen der vier Präparate, wie oben erwähnt, mittels Alkohol hergestellt wurden (Alkoholgehalt der fertigen Gemische 0,2—0,4%), war es erforderlich, Kontrollversuche über die Wirkung des Alkohols auf Lebistes reticulatus vorzunehmen. Hierbei zeigte es sich, daß die Tiere bis zu einem Alkoholgehalt von 1% einen normalen Eindruck machen. Von etwa 2% Alkoholgehalt an treten nach 20—30 Minuten leichte Gleichgewichtsstörungen ein, die allmählich etwas stärker werden, jedoch nehmen die Fische auch nach 2 Stunden noch nicht Seitenlage ein. Erst bei einem Alkoholgehalt von 4—5% kommt es innerhalb von 30—40 Minuten zu Seitenlage und leichter Narkose. Die Tiere reagieren jedoch noch durch Abwehrbewegungen auf mechanische Reize. Ein Alkoholgehalt von 10% führt innerhalb von 10—20 Minuten zu tiefster Narkose und zum Tod.

Die Beobachtung, daß p-Cymol für Enchytraeiden und Ascariden annähernd die gleiche Giftigkeit besitzt wie Ascaridol, dagegen für Lebistes reticulatus, d. h. also für die höheren Tierspezies, 8—10mal giftiger ist als diese Verbindung, ließ es zweifelhaft erscheinen, daß die Behauptung einiger eingangs erwähnter Autoren, daß p-Cymol für Säugetiere nur halb so giftig ist wie Ascaridol, zutrifft. Tierversuche liegen hierüber anscheinend bisher nicht vor.

Es wurden daher gemeinsam mit K. H. Finger[16] Versuche über die Giftigkeit von p-Cymol und Ascaridol bei peroraler Verabfolgung an weißen Mäusen vorgenommen. Hierbei wurde gleichzeitig die Frage geprüft, ob die beiden Mittel in Öl gelöst oder als wässerige Emulsion eingegeben giftiger sind.

Als Versuchstiere dienten weiße Mäuse mit einem Körpergewicht von 16,5—19 g. Die zu prüfenden Mittel wurden den Tieren entweder als wässerige Emulsion oder in Olivenöl gelöst mittels Schlundsonde eingegeben.

[16] Finger, K. H.: Dissertation, Hamburg 1940.

Die Tabelle 2 gibt das Ergebnis einer derartigen Versuchsreihe mit p-Cymol wieder, bei der je 4,0 ccm p-Cymol mit Mucilago Gummi arabici und physiologischer Kochsalzlösung oder mit Olivenöl ad 10,0 ccm emulgiert bzw. gelöst worden waren.

Tabelle 2.

Dosis p-Cymol	Von je 8 Tieren starben bei Eingabe von		Dosis p-Cymol	Von je 8 Tieren starben bei Eingabe von	
ccm	Emulsion	öliger Lösung	ccm	Emulsion	öliger Lösung
0,02	0	0	0,09	8	6
0,03	0	0	0,10	8	6
0,04	0	0	0,11	—	7
0,05	8	0	0,12	—	8
0,06	8	4	0,13	—	8
0,07	8	5	0,14	—	8
0,08	8	5			

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß p-Cymol in Form einer wässerigen Emulsion verabfolgt, erheblich giftiger ist als in öliger Lösung. Annähernd das gleiche Ergebnis wurde bei einer zweiten Versuchsreihe erhalten, bei der je 2 ccm p-Cymol mit Mucilago Gummi arabici und physiologischer Kochsalzlösung oder mit Olivenöl zu 10,0 ccm Emulsion oder Lösung verdünnt wurden.

In Form der Emulsion verabfolgt, wirkten 0,05 ccm p-Cymol für die durchschnittlich 17 g schweren Mäuse mit Sicherheit tödlich. Als ölige Lösung gegeben wurde diese Dosis von allen 8 Versuchstieren überlebt, bei Eingabe von 0,07 ccm p-Cymol in Olivenöl starben 5 von 8 Versuchstieren und erst 0,11 ccm wirkten bei allen Tieren (16—19 g schwer) tödlich.

Als Vergiftungserscheinungen traten kurz nach der Eingabe des Mittels starke Unruhe und ein gewisser Bewegungsdrang auf. Später wurden die Tiere benommen und apathisch, und es trat schließlich allgemeine Lähmung ein. Krämpfe wurden nicht beobachtet. Der Tod erfolgte gewöhnlich erst nach längerer Zeit, jedoch meist im Laufe von 24 Stunden.

Thymol ist mehr als doppelt so giftig wie p-Cymol. Im Wasser im Verhältnis 1 : 10 und unter Zusatz von Mucilago Gummi arabici aufgeschwemmt betrug die mittlere letale Dosis bei peroraler Verabfolgung für die 20 g schwere Maus 13 mg. Nach Eingabe von 15 mg starben sämtliche Tiere im Verlauf von 6—12 Stunden. Die Vergiftungserscheinungen begannen fast unmittelbar nach der Verabfolgung mit einem narkotischen Zustand und mit Lähmungen. Zwischendurch traten kurze Erregungszustände auf. Die Tiere taumelten dann stark ataktisch umher und hatten dabei gelegentlich Zuckungen und Andeutung von Laufkrämpfen. Der Tod wurde anscheinend durch Atemlähmung verursacht (vgl. H. Franke[17]). Bei Verabfolgung in öliger Lösung war die Giftigkeit des Thymols auf die

[17] Franke, H.: Dissertation, Hamburg 1940.

Hälfte herabgesetzt. Als mittlere letale Dosis ist dann für die 20 g schwere Maus 26 mg und als sichere letale Dosis 30 mg anzusehen.

Die Versuche mit Ascaridol, das ebenfalls in Wasser bzw. Kochsalzlösung emulgiert und als ölige Lösung eingegeben wurde, ergaben, daß diese Verbindung erheblich giftiger ist als p-Cymol. Die Tabelle 3 gibt eine Versuchsreihe wieder, bei der die 16—18 g schweren Mäuse je 0,2 ccm Ascaridol, mit Mucilago Gummi arabici und Kochsalzlösung oder mit Olivenöl zu 10,0 ccm Emulsion oder Lösung verarbeitet, peroral erhielten.

Tabelle 3.

Ascaridol	Von je 8 Tieren starben bei Eingabe von		Ascaridol	Von je 8 Tieren starben bei Eingabe von	
ccm	Emulsion	wäßriger Lösung	ccm	Emulsion	wäßriger Lösung
0,001	0	0	0,005	8	7
0,002	4	0	0,006	8	8
0,003	8	0	0,007	—	8
0,004	8	7	0,008	—	8

In Kochsalzlösung emulgiert beträgt mithin die sicher letale Ascaridolmenge 0,003 ccm und in Öl gelöst 0,006 ccm für die 17 g schwere Maus. Bei der Wiederholung des Versuchs mit Verfütterung einer stärkeren Verdünnung des Ascaridols (1 : 100) betrug die sicher letale Dosis für die Emulsion 0,003 ccm und für die Lösung in Öl 0,0055 ccm Ascaridol. Auch für diese Versuchsreihe wurden 16—19 g schwere Mäuse benutzt.

Die Vergiftungserscheinungen äußerten sich kurz nach der Eingabe der Lösungen bzw. Emulsionen in starker Unruhe, der Gang wurde taumelnd und durch die bald eintretende Lähmung der hinteren Extremitäten erschwert. Später traten Schlaf und allgemeine Lähmung ein. Der Tod erfolgte frühestens $^1/_2$ Stunde und spätestens 2 Stunden nach der Verabfolgung des Ascaridols.

Ascaridol ist also nach diesen Versuchen für Säugetiere nahezu 20mal giftiger als p-Cymol. Ferner ist bemerkenswert, daß der Ablauf der Vergiftung bei Ascaridol ein sehr viel schnellerer ist als bei p-Cymol. Das äußere Bild der Vergiftung ist im übrigen bei beiden Mitteln ähnlich.

Besonders wichtig ist ferner der Befund, daß beide Verbindungen, in Wasser bzw. Kochsalzlösung emulgiert, ungefähr doppelt so giftig sind, als wenn sie in Öl gelöst eingegeben werden. Dieser Befund muß deshalb überraschen, weil aus dem Befund der auffällig guten Resorbierbarkeit einiger schlecht wasserlöslichen Schlafmittel (Adalin, Bromural, Sedormid) bei Lösung in Olivenöl vom Magen-Darmkanal geschlossen worden war, daß auch die Anthelminthica bei Lösung in Öl besser resorbiert und damit auch giftiger werden würden[18]. Dies trifft aber für Ascaridol und p-Cymol und — wie demnächst an anderer Stelle berichtet werden wird — auch für mehrere andere Wurmmittel nicht zu.

[18] Oelkers, H.-A.: Fschr. Ther. **1939**, S. 1993.

Zusammenfassung.

Versuche in vitro ergaben, daß das zu etwa 22% im Chenopodiumöl neben Ascaridol vorkommende p-Cymol nahezu die gleiche Giftigkeit für Enchytraeus albus und Ascaris megalocephala besitzt wie Ascaridol. Kontrollversuche mit Thymol zeigten eine leichte Überlegenheit dieses Mittels über Ascaridol und p-Cymol, während Chenopodiumöl deutlich am schwächsten wirksam war.

Am nervenfreien Ringmuskelpräparat des Blutegels und des Regenwurms wirkten die genannten 4 Verbindungen ausgesprochen erregend. Am stärksten wirkten hier p-Cymol und Thymol. Chenopodiumöl und besonders Ascaridol waren deutlich schwächer wirksam.

Am isolierten Kaninchendarm wurde gefunden, daß Ascaridol, Chenopodiumöl und Thymol bereits in niedriger Konzentration tonussenkend wirken und die Pendelbewegungen stark hemmen. Cymol bleibt in niedriger Konzentration wirkungslos und führt in etwas höherer Konzentration zu Tonuszunahme und Abschwächung der Pendelbewegungen.

Bei Versuchen an Fischen zeigten p-Cymol und Thymol eine 7—10mal größere Giftigkeit als Ascaridol. Chenopodiumöl ist im Gegensatz zu Literaturangaben ebenfalls für Fische etwas giftiger als Ascaridol.

Für weiße Mäuse ist Ascaridol bei peroraler Verabfolgung ungefähr 20mal giftiger als p-Cymol. Beide Mittel sind bei peroraler Verabfolgung in Wasser emulgiert annähernd doppelt so giftig wie bei Lösung in Olivenöl. Kontrollversuche mit Thymol ergaben, daß dieser Körper für Mäuse mehr als doppelt so giftig ist als p-Cymol.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Über die Wirkung einiger Gefäß- und Herzmittel auf die Cholinesterase im Blut.

Von

F. Zinnitz und **E. Rentz.**

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. April 1940.)

In einer früheren Arbeit[1] konnte festgestellt werden, daß zwischen dem Grade der Cholinesterasekonzentration im Blutserum von Katzen und der Höhe des Blutdrucks ein Zusammenhang besteht. Und zwar nimmt der Esterasegehalt des Blutserums mit ansteigendem Blutdruck zu, während er bei sinkendem vermindert wird. Dieses Verhalten wurde damals mit den Unterschieden im Bedarf an Esterase bei hohem Blutdruck mit schwachem Vagustonus und niedrigem Blutdruck mit starkem Vagustonus erklärt. Denn die Esterase als Reaktionspartner des Vagusüberträgerstoffs Azetylcholin spielt bei der Bildung einer bestimmten Blutdruckhöhe als Faktor eine ausschlaggebende Rolle, da sie die Geschwindigkeit des Verseifungsprozesses beim Azetylcholinabbau ihrem Konzentrationsgrade entsprechend verlangsamt oder beschleunigt. Azetylcholin, das ein Potentialstoff im Sinne Straubs ist, wirkt nicht durch die absolute Menge die dem Organismus zugeführt wird, sondern durch das an seinem Wirkungsort entstehende Konzentrationsgefälle, das durch die Anwesenheit der Esterase bedingt wird. Im menschlichen und tierischen Organismus bilden sich so die Unterschiede in den Blutdruckhöhen in Abhängigkeit von der Stärke des Vagustonus. Danach hat ein starker Vagustonus bei niedrigem Blutdruck mit einer hohen Azetylcholinkonzentration durch die gesteigerte Beanspruchung von Esterase bei der Bildung eines hohen Azetylcholinpotentialgefälles am Wirkungsort cholinergischer Gefäßnervenendigungen eine Senkung des Esterasespiegels im Blutserum zur Folge, während umgekehrt bei hohem Blutdruck mit vermindertem Vagustonus und niedriger Azetylcholinkonzentration der Esterasegehalt im Blutserum zunimmt. Es ergänzen sich so, wie bereits in der oben angeführten Arbeit gezeigt werden konnte, Azetylcholin- und Esterasekonzentration bei der Schaffung einer bestimmten Blutdruckhöhe zu einem dynamischen Gleichgewicht. Hierbei sei noch erwähnt, daß dieses Gleichgewicht einer übergeordneten Steuerung durch cerebrale Impulse unterstellt ist, als deren hauptsächlich-

[1] Zinnitz, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 316 (1940).

ster Angriffspunkt eine Permeabilitätsveränderung der Zellgrenzflächen an den Wirkungsorten cholinergischer Nervenfasern angesehen wurde.

Auf Grund dieser Vorstellungen lag es nahe, Untersuchungen darüber anzustellen, ob und in welchem Maße jene Pharmaka, die eine Wirkung auf den Blutdruck haben, in den Verseifungsprozeß beim Azetylcholinabbau eingreifen. Auch schien es lohnenswert zu sein festzustellen, inwieweit Digitalisstoffe mit ihrer „Urwirkung" auf den Vagus den fermentativen Prozeß bei der Übertragung des Vagusreizes beeinflussen.

Zur Bestimmung der Esterasekonzentration bei den in dieser Arbeit beschriebenen Versuchen wurde Menschen- und Katzenblutserum verwendet. Die Menschenblutsera wurden zur Durchführung von Modellversuchen benutzt, bei denen die Wirkung unterschiedlicher Dosen gefäß- und herzwirksamer Substanzen auf eine konstante Esterasekonzentration untersucht wurde. Anders war dies bei den Tierversuchen mit Katzen der Fall. Hier wurde durch Dauerinfusionen mit den obengenannten Stoffen die gesamte im tierischen Organismus vorhandene Esterasemenge zu beeinflussen versucht und die dabei auftretenden Veränderungen aus den Unterschieden des Esterasespiegels im Blutserum gedeutet. Handelt es sich so bei den Versuchen mit Menschenblutserum allein um die im Serum gelöste, frei wirksame Cholinesterase, so ist im Gesamtorganismus außerdem noch die in der Zellstruktur verankerte und am Wirkungsort cholinergischer Nervenfasern zur Wirkung gebundene Esterase vorhanden. Bei der Besprechung der Angriffspunkte für die einzelnen Wirkungstypen der untersuchten Stoffe sollen die besonderen Anteile, die einer direkten Beeinflussung der Fermenttätigkeit zukommen und solche, die erst indirekt über bestimmte Zustandsänderungen an den Zellgrenzflächen der Wirkungsorte cholinergischer Fasern und innerhalb der Zellen den fermentativen Prozeß beim Azetylcholinabbau in seinem Ablauf verändern, in Betracht gezogen werden.

Methode.

Die Esterasekonzentration im Blutserum wurde nach dem Prinzip der Warburg-Methode, wie sie von Ammon[2] angegeben worden ist, bestimmt. Die einzelnen Esterasebestimmungen wurden in der gleichen Weise durchgeführt, wie sie bereits in der obengenannten Arbeit[1] beschrieben worden ist. Es handelt sich dabei um ein gasanalytisches Verfahren, bei dem die infolge der Azetylcholinspaltung freiwerdende Essigsäure aus der als Lösungsmittel benutzten bicarbonathaltigen Krebs-Ringer-Lösung eine äquivalente Menge Kohlensäure austreibt. Die entwickelten cmm CO_2 können so als Maß für die Cholinesterasekonzentration in dem zu untersuchenden Blutserum gelten. Das verwendete Menschenblut wurde den Versuchspersonen nüchtern aus der Armvene abgenommen. Als gerinnungshemmendes Mittel wurde Liquoid[3] in 50 mg%iger Konzentration gebraucht. Das Katzenblut wurde aus der art. carot. abgelassen und seine Gerinnung mit Liquoid in der gleichen Konzentration wie das Menschenblut gehemmt. Die Katzen waren

[2] Ammon, R.: Pflügers Arch. **233**, 486 (1933). — [3] Für die freundliche Überlassung des Liquoids danken wir der Firma Hoffmann-La Roche

mit 90 mg pro kg Körpergewicht Chloralose narkotisiert. Der Blutdruck wurde bei den Versuchen mit Hilfe der Trendelenburgschen Gegenstrominfusionsapparatur fortlaufend registriert. Die zu untersuchenden Substanzen injizierte man in die Vena jugularis der Versuchstiere. Zur Durchführung von Dauerinfusionen wurde die Heuwingsche Präzisionsmotorspritze[4] verwendet.

Die Beeinflussung der Cholinesterase im Menschenblutserum durch Suprarenin, Veritol, Sympatol, Cardiazol, Coramin, Suprifen, Racedrin Hexeton und k-Strophanthin.

Die in den Abb. 1, 2 und 3 graphisch dargestellten Versuchsergebnisse wurden einer Anzahl von 20 ausgeführten Versuchsreihen entnommen. Bei der Durchführung der einzelnen Versuche waren die verwendeten

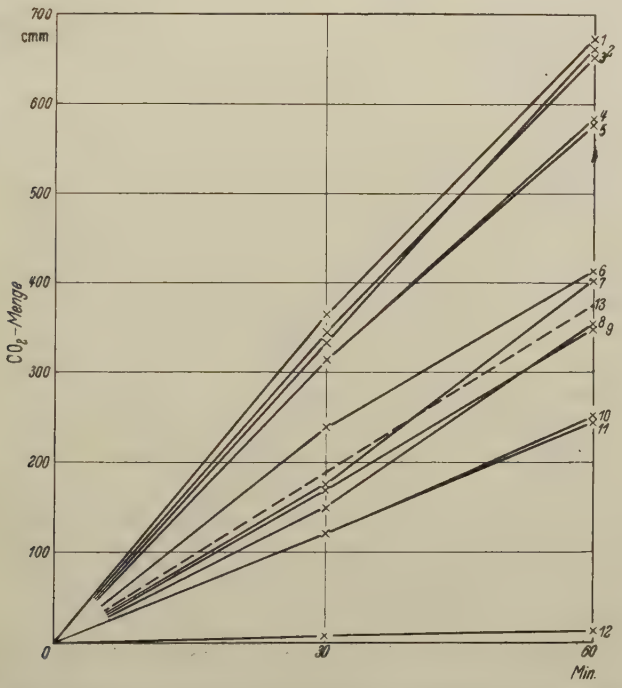


Abb. 1. Ordinate: Gebildete CO_2-Menge in cmm. Abszisse: Spaltungszeit des Azetylcholinchlorids in Minuten.

Kurven 1 und 4: Leerversuche,
Kurve 2: Versuch mit 2 mg Suprifen,
„ 3: „ „ 2 „ Sympatol,
„ 5: „ „ 10 „ Sympatol,
„ 6: „ „ 10 „ Suprifen,
„ 7: „ „ 2 „ Veritol,
„ 8: „ „ 2 „ Racedrin,
„ 9: „ „ 10 „ k-Strophanthin,
„ 10: „ „ 10 „ Veritol,
„ 11: „ „ 10 „ Racedrin,
„ 12: „ „ 2 „ Hexeton,
„ 13: „ „ 5 γ Physostigmin.

[4] Straub, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 456 (1937).

Blutserumverdünnungen unterschiedlich. Serummengen von 0.1 bis zu 5.0 ccm wurden auf 10,0 ccm Krebs-Ringer-Lösung verdünnt und hiervon je 2,0 ccm als wirksame Fermentkonzentration gebraucht. Von den zu untersuchenden Substanzen wurden die Originallösungen verwendet, die man mit Krebs-Ringer-Lösung oder Aqua destillata entsprechend verdünnte. Ferment- und Substanzverdünnung wurden im Ansatzstück eines Nicolaitroges zusammengegeben. Im Trog selbst befanden sich bei jedem Versuch 15 mg Azetylcholinchlorid als Substrat, die in 3,0 ccm Krebs-Ringer gelöst waren. Wurden starke Serumkonzentrationen mit hohem Fermentgehalt untersucht, dann war die Dosierung der Versuchssubstanzen gleichfalls höher als bei niederer Serumkonzentration.

Bei dem Versuch von Abb. 1 wurden die Wirkungen von 2 und 10 mg Sympatol, 2 und 10 mg Suprifen, 2 und 10 mg Veritol, 10 mg k-Strophanthin, 2 und 10 mg Racedrin und 2 mg Hexeton auf die Cholinesterase im Menschenblutserum bei einer Fermentverdünnung von 2,0 ccm Serum auf 10,0 ccm Krebs-Ringer-Lösung untersucht. Vergleicht man die Kurven der Leerversuche mit allen übrigen von Abb. 1, so läßt sich erkennen, daß die Dosen von 2 und 10 mg Sympatol und 2 mg Suprifen keinen Einfluß auf den Spaltungsablauf bei der Azetylcholinhydrolyse haben, denn die Einzelwerte der CO_2-Bestimmungen nach 30 und 60 Minuten Versuchsdauer im Warburg-Apparat liegen dicht im Bereich der Fehlergrenze der Leerversuche nebeneinander. Dagegen zeigen die Kurven von 2 mg Veritol und Racedrin sowie jene von 10 mg Suprifen und k-Strophanthin eine mäßige Hemmung der Azetylcholinverseifung. In stärkerem Maße hemmen schon die Dosen von 10 mg Racedrin und 10 mg Veritol. Als am stärksten wirksam aber erwiesen sich 2 mg Hexeton.

Was den Einwand betrifft, daß es sich bei diesem Versuch um sehr große Mengen der untersuchten Substanzen handelt, so ist zu bedenken, daß gleichfalls eine starke Fermentkonzentration vorhanden war.

Zum Vergleich sei die gestrichelte Kurve von Abb. 1, die die Wirkung der kleinen Dosis von 5 γ Physostigmin. salicyl. erkennen läßt, daneben gesetzt, woraus die starke Hemmung der Esterase durch diesen Stoff ersichtlich ist. Größere Dosen von Physostigmin (0,01 bzw. 0,1 mg) hemmten total.

In Abb. 2 wurde die Beeinflussung des Verseifungsprozesses beim Spaltungsablauf des Azetylcholinchlorids durch 1 und 5 mg Cardiazol, 1 und 5 mg Coramin, 1 und 5 mg Sympatol, 1 und 5 mg k-Strophanthin, 1 und 5 mg Suprifen und 1 und 5 mg Veritol bei einer Fermentverdünnung von 0,5 ccm Menschenblutserum auf 10,0 ccm Krebs-Ringer-Lösung beobachtet. Die graphische Darstellung des Verlaufs der Azetylcholinhydrolyse zeigt für die abgelesenen Werte der frei gewordenen CO_2-Mengen bei den Untersuchungen mit 1 und 5 mg Cardiazol, 1 und 5 mg Coramin, 1 und 5 mg Sympatol und 1 mg k-Strophanthin keine deutlichen Unterschiede. Die Werte schwanken hier für alle Einzelbestimmungen zwischen 146

und 169 cmm CO_2 nach 60 Minuten langer Versuchsdauer. Die Leerversuche setzten 186 und 157 cmm CO_2 in Freiheit. Der Verlauf dieser Kurven zeigt, daß Cardiazol, Coramin und Sympatol in kleinen Mengen von 1 mg auf die Cholinesterase des Blutserums unwirksam sind und auch bei Gaben von 5 mg nur Coramin und Sympatol in ganz geringem Grade die

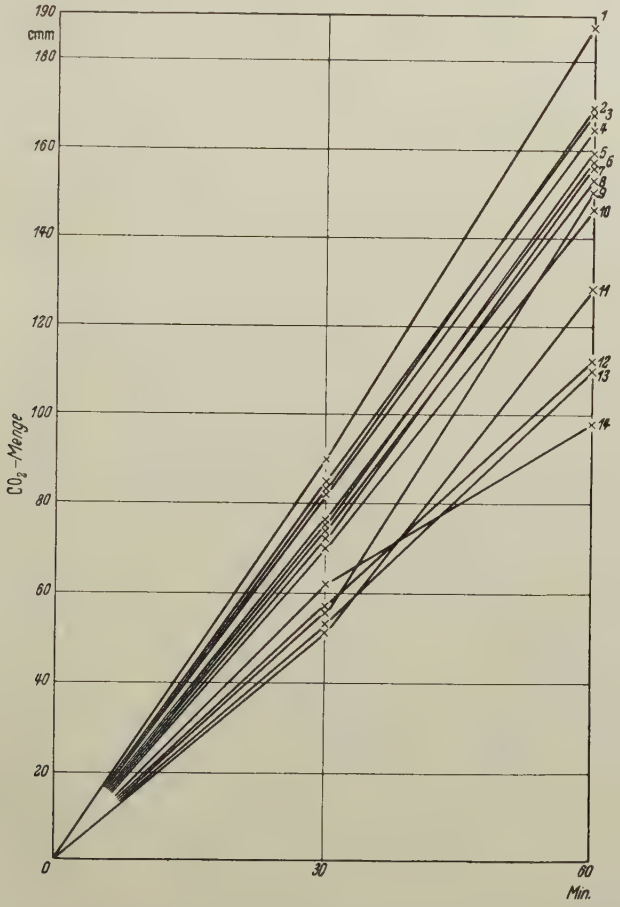


Abb. 2.
Ordinate: Gebildete CO_2-Menge in cmm. Abszisse: Spaltungszeit des Azetylcholinchlorids in Minuten.
Kurven 1 und 6: Leerversuche,
Kurve 2: Versuch mit 1 mg Sympatol,
„ 3: „ „ 1 „ Cardiazol,
„ 4: „ „ 5 „ Cardiazol,
„ 5: „ „ 1 „ Coramin,
„ 7: „ „ 1 „ k-Strophanthin,
„ 8: „ „ 5 „ Sympatol,
„ 9: „ „ 1 „ Suprifen,
„ 10: „ „ 5 „ Coramin,
„ 11: „ „ 5 „ Suprifen,
„ 12: „ „ 5 „ k-Strophanthin,
„ 13: „ „ 1 „ Veritol,
„ 14: „ „ 5 „ Veritol.

Azetylcholinverseifung hemmen. Anders ist dies bei den Untersuchungen mit Suprifen, k-Strophanthin und Veritol, die bei Dosen von 5 mg eine deutliche Hemmung zeigen. Veritol setzt bei diesem Versuch selbst bei einer Gabe von nur 1 mg die Verseifungsgeschwindigkeit des Cholinesters stark herab, denn während bei den Leerversuchen die CO_2-Entwicklung im Mittel 172 cmm frei werden läßt, bilden sich unter der Wirkung von 1 mg Veritol nur 110 cmm CO_2 und von 5 mg Veritol 98 cmm CO_2 innerhalb der 1. Versuchsstunde. Die Wirkungen von 5 mg k-Strophanthin und 1 mg Veritol haben in diesem Falle fast den gleichen Grad. Der soeben beschriebene Versuch zeigt wie der von Abb. 1, daß Suprifen, k-Strophanthin und Veritol einen hemmenden Einfluß auf die Cholinesterase

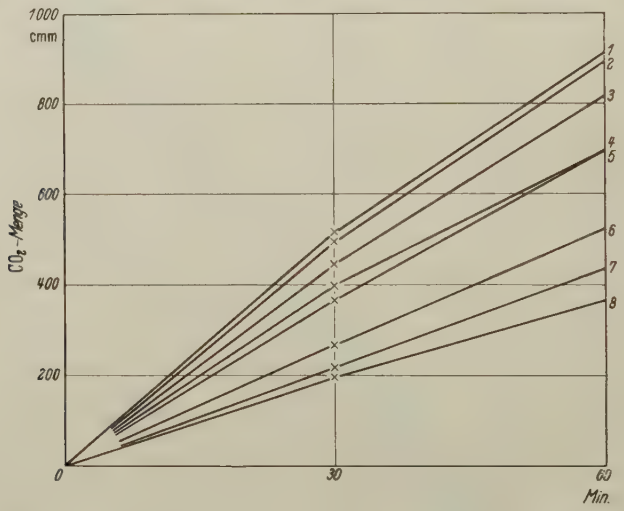


Abb. 3.
Ordinate: Gebildete CO_2-Menge in cmm. Abszisse: Spaltungszeit des Azetylcholinchlorids in Minuten.
Kurven 1 und 2: Leerversuche,
Kurve 3: Versuche mit 5 mg Sympatol,
„ 4: „ „ 20 „ Sympatol,
„ 5: „ „ 2 „ k-Strophanthin,
„ 6: „ „ 10 „ k-Strophanthin,
„ 7: „ „ 20 „ k-Strophanthin,
„ 8: „ „ 10 „ Veritol.

im Blutserum ausüben, wobei die Wirkung von k-Strophanthin gegenüber der von Suprifen gesteigert ist, während die des Veritols von allen drei Substanzen am stärksten ist.

Eine Einschränkung der Esterasewirkung durch Veritol und Strophanthin läßt auch der Versuch von Abb. 3 deutlich erkennen. Hier wurden bei einer Fermentkonzentration von 2,0 ccm Menschenblutserum auf 10,0 ccm Krebs-Ringer-Lösung die einzelnen Wirkungsgrade von 5 und 20 mg Sympatol, 2, 10 und 20 mg k-Strophanthin und 10 mg Veritol betreffs der Cholinesterasehemmung verglichen. Während die unbeeinflußte, voll

wirksame Fermenttätigkeit bei den Leerversuchen nach 60 Minuten langer Versuchsdauer durchschnittlich 910 cmm CO_2 frei werden läßt, entwickeln sich unter der Einwirkung von 5 mg Sympatol 820 cmm CO_2, von 20 mg Sympatol 700 cmm CO_2, von 2 mg k-Strophanthin ebenfalls 700 cmm CO_2, von 10 mg k-Strophanthin 530 cmm CO_2, von 20 mg k-Strophanthin 440 cmm CO_2 und von 10 mg Veritol 360 cmm CO_2. Der Verlauf der Kurve von 20 mg Sympatol zeigt, daß die Esterase von dieser hohen Dose nur in dem gleichen Maße wie von 2 mg k-Strophanthin gehemmt wird. Bei den Gaben von 20 mg k-Strophanthin und 10 mg Veritol lassen die Kurven eine etwa 50%ige Hemmung der Azetylcholinverseifung nachweisen. An Hand dieses Versuchs soll noch weiterhin gezeigt werden, daß der Grad der Esterasehemmung annähernd proportional der Steigerung der zugeführten Mengen der zu untersuchenden Substanzen ist. Das beweisen die Kurven von 2, 10 und 20 mg k-Strophanthin. Ein ähnliches Verhalten war für alle in dieser Arbeit gebrauchten Pharmaka gültig.

Zusammenfassend sei gesagt, daß die in den Abb. 1, 2 und 3 zur Darstellung gekommenen Versuchsergebnisse für alle durchgeführten Versuchsreihen zutrafen. Hexeton und Racedrin hatten eine starke hemmende Wirkung auf die Cholinesterase im Blutserum. In geringerem Grade taten dies Veritol, k-Strophanthin und Suprifen, während Suprarenin, Sympatol, Cardiazol und Coramin wenig oder gar keinen Einfluß hatten. Auf Grund der vorliegenden Versuchsergebnisse kann somit gesagt werden, daß die auf den Blutdruck wirkenden Substanzen in ganz unterschiedlichem Grade den fermentativen Prozeß beim Azetylcholinabbau hemmen. Da es sich bei den Versuchen mit Menschenblutserum um eine jeweils konstante Konzentration von frei im Blutserum gelöster Cholinesterase handelt, die völlig unabhängig von den Zustandsänderungen in den Zellen und Geweben des Organismus weder gesteigert noch vermindert werden kann, erscheint es berechtigt, die Unterschiede in den gebildeten CO_2-Mengen als direkte Wirkung auf die Esterase zu deuten. Ob es sich bei diesem Vorgange um eine direkte Beeinflussung des Ferments oder seines kolloidalen Eiweißträgers handelt, kann auf Grund der vorliegenden Versuche nicht entschieden werden.

Die Wirkung von Dauerinfusionen mit Suprarenin, Veritol und Sympatol auf die Cholinesterase im Blutserum von Katzen.

Bei den Esterasebestimmungen im Menschenblutserum handelt es sich, wie schon oben ausgeführt wurde, um Modellversuche, die die Wirkung der untersuchten Substanzen auf eine konstante Esterasekonzentration nachwiesen. Anders ist dies bei den Versuchen am lebenden Organismus der Fall. In einer früheren Arbeit[1] konnte bereits festgestellt werden, daß sich in Abhängigkeit von der Höhe des Blutdrucks die Fermentkonzentration im Blutserum ändert. Sie nimmt mit steigendem Blutdruck zu und sinken-

dem ab. Aus diesem Grunde war es zu erwarten, daß auch die Blutdrucksteigerungen durch Suprarenin, Veritol und Sympatol mit einer Erhöhung der Esterasekonzentration im Blutserum einhergehen. Aus Abb. 4 kann man ersehen, daß es unter der Wirkung von Dauerinfusionen mit Suprarenin und Veritol tatsächlich zu einer Steigerung der Esterasekonzentration im Blutserum kommt. Die durch die einzelnen Blutentnahmen bezeichneten Punkte der oberen Kurve von Abb. 4, deren Ergebnisse die Werte für die CO_2-Entwicklung nach 60 Minuten langer Versuchsdauer im Warburg-Apparat darstellen, zeigen nach Beginn der Suprarenindauerinfusion

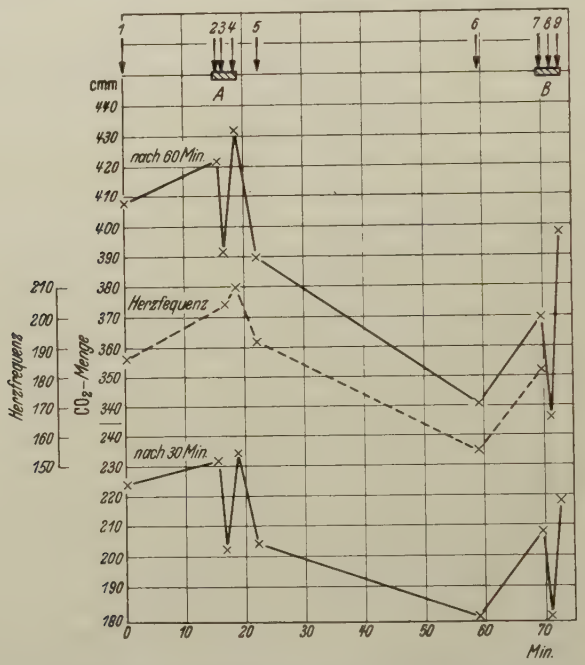


Abb. 4. Ordinate: Gebildete CO_2-Menge in cmm nach 30 bzw. 60 Minuten. Gestrichelte Ordinate Herzfrequenz. Abszisse: Zeit in Minuten. Die mit Zahlen versehenen Pfeile zeigen die einzelnen Blutentnahmen an. *A*: Suprarenininfusion von insgesamt 0,15 mg (0,07 mg pro kg Katze). *B*: Veritolinfusion von insgesamt 3 mg (1,4 mg pro kg Katze).

eine geringe Zunahme der Esterase von 408 cmm CO_2 bei der Leerversuchblutentnahme 1 auf 422 cmm entwickelte CO_2 bei Blutentnahme 2. Daraufhin folgt eine Senkung auf 392 cmm gebildete CO_2, die sofort durch eine erneute Steigerung der Cholinesterasekonzentration mit 432 cmm frei gewordener CO_2 abgelöst wird. Nach Beendigung der Dauerinfusion kommt es wiederum zu einer Senkung des Esterasespiegels im Blutserum. Im Zusammenhang mit diesen Befunden ist es interessant, den Verlauf der Blutdruckkurve von Abb. 5, auf der durch Pfeile die einzelnen Blutentnahmen gekennzeichnet sind, zu beobachten. Es läßt sich feststellen, daß

die erste Steigerung der Esterasekonzentration bei Blutentnahme 2 von Abb. 4 mit der stärksten blutdrucksteigernden Wirkung, die einen absoluten Wert von 44 mm Hg hat, einhergeht. Im gleichen Sinne zeigt es sich, daß die auf die Steigerung des Blutdrucks folgende gegenregulatorische Senkung als Parallelerscheinung hierzu die Abnahme der Esterasekonzentration bei Blutentnahme 3 aufweist. Nach der erneuten Wiedereinstellung eines gleichmäßig hochbleibenden Blutdruckniveaus steigt dann auch die Esterasekonzentration bei Blutentnahme 4 erneut an, um dann nach dem Absetzen der Suprarenindauerinfusion, die das Vergehen der Blutdrucksteigerung zur Folge hat, die Esterasemenge des Blutserums wiederum herabzusetzen, was Blutentnahme 5 zeigt. Es könnte bei diesen nur geringen Schwankungen in den Werten für die einzelnen CO_2-Bestimmungen

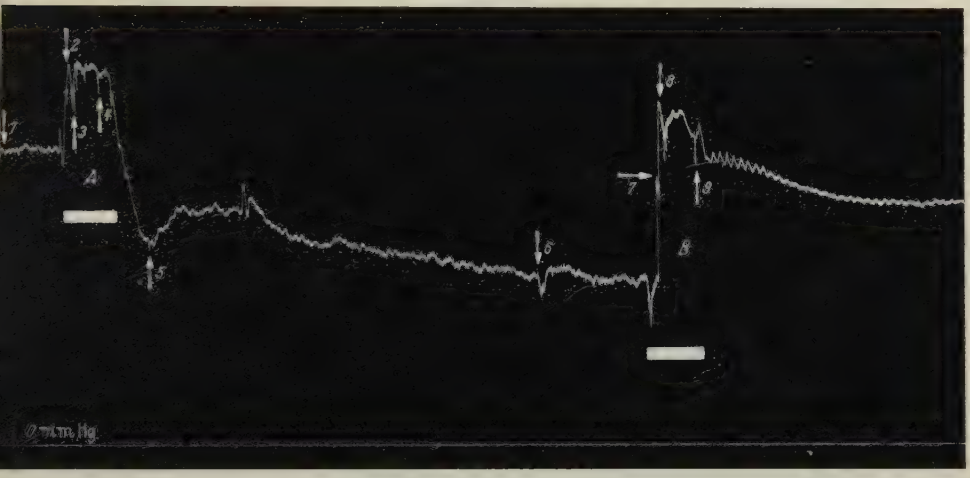


Abb. 5. *A*: Suprarenindauerinfusion. *B*: Veritoldauerinfusion. Die mit Zahlen versehenen Pfeile zeigen auf der Blutdruckkurve den Augenblick der Blutentnahme an.

der Einwand erhoben werden, daß die Befunde im Bereiche der Fehlergrenze der Methode liegen. Da jedoch für alle vorliegenden Versuche dieser Arbeit regelmäßig ein ähnlicher Befund erhoben werden konnte, erschien die Anerkennung auch dieser Unterschiede in den Endresultaten als berechtigt.

Im weiteren Verlaufe zeigt die 60 Minuten-Kurve von Abb. 4 bei Blutentnahme 6 eine Senkung des Esterasespiegels auf 342 cmm entwickelte CO_2. Diese Abnahme des Esterasegehalts im Blutserum gegenüber Blutentnahme 1 erklärt die im Laufe des Versuchs spontan entstandene Blutdruckabnahme, die auf Abb. 5 deutlich zu erkennen ist. Die Ausgangsblutdruckhöhe beträgt bei Blutentnahme 1 160 mm Hg und bei Blutentnahme 6 90 mm Hg.

Die Zunahme der Esterase beim Anstieg des Blutdrucks infolge der Veritoldauerinfusion auf Abb. 4 von 336 auf 370 cmm gebildete CO_2

bei Blutentnahme 7 und die darauffolgende Abnahme während der gegenregulatorischen Blutdruckregulierung des tierischen Organismus, die nur 337 cmm CO_2 frei werden läßt, demonstriert den gleichen Vorgang wie bei der Suprarenindauerinfusion. Nur ist der Anstieg des Esterasespiegels im Blutserum während des konstant erhöhten Blutdruckniveaus von Blutentnahme 9 auf 398 cmm entwickelte CO_2 intensiver als bei der Suprarenindauerinfusion. Hierzu ist jedoch zu bemerken, daß, wie die Blutdruckkurve von Abb. 5 zeigt, das Ausgangsniveau des Blutdrucks beim Beginn der

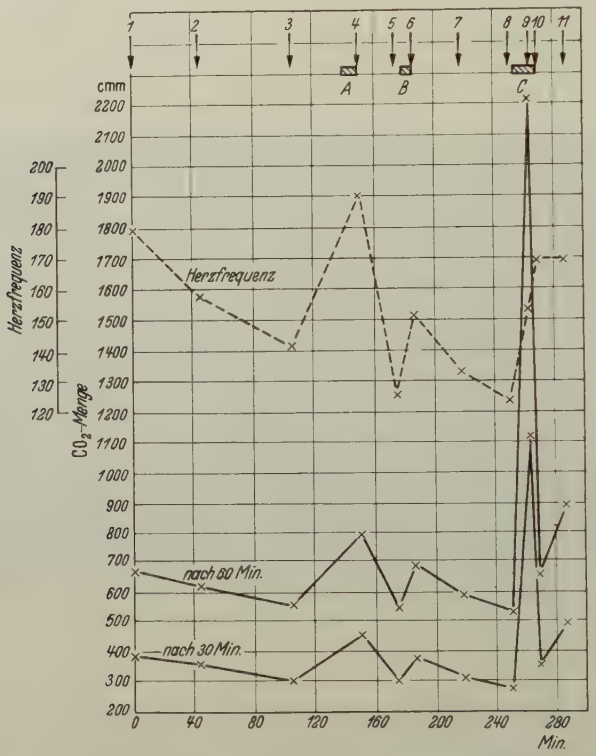


Abb. 6. Ordinate: Gebildete CO_2-Menge in cmm nach 30 bzw. 60 Minuten. Gestrichelte Ordinate: Herzfrequenz. Abszisse: Zeit in Minuten. Die mit Zahlen versehenen Pfeile zeigen die einzelnen Blutentnahmen an. *A*: Suprarenininfusion von insgesamt 0,15 mg (0,05 mg pro kg Katze). *B*: Sympatolinfusion von insgesamt 6 mg (2 mg pro kg Katze). *C*: Veritolinfusion von insgesamt 7 mg (2,3 mg pro kg Katze).

Veritoldauerinfusion mit 90 mm Hg gegenüber dem bei der Suprarenindauerinfusion mit 160 mm Hg um 70 mm Hg niedriger ist. In Abhängigkeit von diesem Ausgangsniveau kommt es darum auch bei der Suprarenindauerinfusion nur zu einem absoluten Blutdruckanstieg von 42 mm Hg, während dieser bei der Veritoldauerinfusion 90 mm Hg beträgt. Diese Feststellung muß bei der Bewertung des stärkeren Wirkungsgrades der Veritoldauerinfusion auf die Esterasekonzentration in Betracht gezogen

werden. Auf Grund der bestehenden, spontanen Blutdruckabnahme kann darum die gesteigerte Wirkung des Veritols gegenüber der des Suprarenins nicht als spezifisch bezeichnet werden.

Abb. 4 bringt in einer graphischen Darstellung außer der im Warburg-Apparat nach 60 Minuten langer Versuchsdauer entwickelten CO_2-Menge auch die nach 30 Minuten frei gewordene. Bei Betrachtung beider Kurven kann man feststellen, daß sie völlig gleichsinnig verlaufen.

Wie schon oben erwähnt wurde, besteht eine Abhängigkeit der Esterasekonzentration des Blutserums von der Höhe des Blutdrucks. An Hand der Versuchsergebnisse in dieser Arbeit ließ sich weiterhin feststellen, daß mit der Steigerung und Senkung des Esterasegehalts auch die Herzfrequenz zu- und abnimmt. Das läßt die gestrichelte Kurve von Abb. 4 erkennen, die den Kurven der Esterasekonzentration parallel verläuft und sich deren Wechsel angleicht. Die Herzfrequenz wurde durch Thoraxpalpation festgestellt.

Abb. 7. *A*: Suprarenininfusion. *B*: Sympatolinfusion. *C*: Veritolinfusion. Die mit Zahlen versehenen Pfeile zeigen auf der Blutdruckkurve den Augenblick der Blutentnahme an.

Abb. 6 soll zeigen, welchen Grad die Steigerung der Esterasekonzentration im Blutserum maximal erreichen kann. Abb. 7 enthält die zu dem Versuch von Abb. 6 gehörige Blutdruckkurve, auf der durch Pfeile die einzelnen Blutentnahmen vermerkt worden sind. Zu Beginn des Versuchs

wurde bei einer spontanen Blutdrucksenkung innerhalb der ersten 2 Versuchsstunden mit Hilfe von 3 Blutentnahmen die Senkung des Esterasespiegels im Blutserum entsprechend der Blutdruckabnahme beobachtet. Bei einer absoluten Blutdrucksenkung von 70 mm Hg nimmt, wie die Ergebnisse der Esterasebestimmungen bei den Blutentnahmen 1, 2 und 3 nach 60 Minuten langer CO_2-Entwicklung nachweisen, die CO_2-Menge um 110 cmm ab. Im weiteren Verlaufe des Versuchs sieht man an der 60-Minuten-Kurve, daß mit Hilfe von Suprarenin- und Sympatoldauerinfusionen ein Anstieg der Esterase zustande kommt, der sich mit dem Absinken des Blutdrucks beim Vergehen der Wirkung wieder zurückbildet. Hierbei zeigt es sich, daß dem Suprarenin eine stärkere Wirksamkeit zukommt als dem Sympatol. Welch enorme Wirkung jedoch durch eine Veritoldauerinfusion erzielt werden kann, beweist die entwickelte CO_2-Menge von 2200 cmm. Es ist dies mehr als das Dreifache des Esterasegehalts im Normalserum zu Versuchsbeginn. Auch nach dem Absetzen der Veritoldauerinfusion blieb die Esterasekonzentration im Vergleich zu der Steigerung durch Suprarenindauerinfusion in stärkerem Maße erhöht. Diese Feststellung ist um so beachtenswerter als die absolute Blutdrucksteigerung unter Veritol in diesem Falle nur 100 mm Hg beträgt, während sie bei Suprarenin und Sympatol, wie Abb. 7 zeigt, bis zu 120 mm Hg ausmacht. Das Ausgangsniveau des Blutdrucks war dabei für alle Dauerinfusionen fast das gleiche. Auf Grund noch weiterer Versuche konnte festgestellt werden, daß die durch Veritolwirkung zustande kommende, langandauernde Blutdrucksteigerung mit einer stärkeren Beeinflussung des Cholinesterasegehalts des Blutserums verbunden ist.

Die gestrichelte Kurve von Abb. 6 stellt die Herzfrequenz dar. Ihr Verlauf zeigt, wie in Abb. 4, daß mit vermindertem Esterasegehalt auch die Herzfrequenz zurückgeht und desgleichen bei erhöhter Fermentkonzentration die Herztätigkeit gesteigert wird.

Betrachtet man nun die Wirkungen von Suprarenin, Veritol und Sympatol im Falle der Dauerzufuhr in den tierischen Organismus, dessen Esterasespiegel im Blutserum einem andauernden Wechsel unterliegt, und bei den Modellversuchen am Menschenblutserum mit konstanter Fermentkonzentration, so stehen sich die erzielten Versuchsergebnisse gegenüber. Denn während die Esterase im Menschenblutserum bei statischen Verhältnissen in ihrer Wirksamkeit gehemmt wird, kommt es bei den dynamischen Vorgängen im Funktionssystem des Gesamtorganismus zu einer Steigerung der Esterasekonzentration des Blutserums, die entsprechend dem Grade der Blutdrucksteigerung und der Erhöhung der Herzfrequenz in geringerem oder stärkerem Maße vor sich geht. Andererseits läßt sich aber auch ein Zusammenhang zwischen dem Grade der Vermehrung des Esterasegehalts im Blutserum der Versuchstiere und der Stärke der hemmenden Wirkung, die von den untersuchten Substanzen bei konstanter Fermentkonzentration im Menschenblutserum ausgeübt wird, erkennen. Während bei diesen Versuchen dem Suprarenin und Sympatol in kleinen

Dosen keine, was für das Suprarenin schon von Ammon[2] angegeben wird, und in großen nur eine geringe Wirkung zukommt, hemmt Veritol schon in kleinen Mengen. Vergleicht man hierzu die Ergebnisse der Katzenversuche in den Abb. 4 und 6, so lassen diese erkennen, daß nach der Dauerzufuhr von Veritol die Zunahme der Esterase im Blutserum am stärksten ist. Auf Grund der vorliegenden experimentellen Tatsachen liegt es nahe, auf dem Wege über die im lebenden Organismus bestehenden gegenregulatorischen Vorgänge eine Erklärung zu suchen. Die Rolle, die die Esterase bei der Bildung des Vagustonus durch die Steuerung des Azetylcholinpotentialgefälles spielt, weist darauf hin, daß in der Inhaftierung eines Teils der Esterase des Blutes durch Suprarenin, Sympatol und Veritol ein Grund für die Mobilisierung der gegenregulatorischen, blutdrucksteigernden Kräfte zu suchen ist. Wie die Zacken der Kurven für die Esterasekonzentrationen in Abb. 4 zu Beginn jeder Dauerinfusion zeigen, ist aber in bezug auf die Esterase bei der Bildung eines gesteigerten Blutdruckniveaus kein einheitlicher Vorgang vorhanden. Es muß sich hier um ein mehrphasisches Geschehen handeln, für das sich aus den experimentellen Tatsachen der vorliegenden Versuche die einzelnen Bedingungen ableiten lassen. Zunächst wird durch die Inaktivierung eines Teils der Esterase des Blutes der Esterasespiegel herabgesetzt und dadurch an den Wirkungsorten cholinergischer Gefäßnervenendigungen das bestehende Azetylcholinpotentialgefälle gesenkt, so daß durch die Schwächung des Vagustonus die Vorbedingung für eine Erhöhung des Blutdrucks geschaffen ist, da der gegenregulatorische adrenergische Tonus stärker hervortreten kann. Wie nun aus dem Verlauf der Blutdruckkurven der Abb. 5 und 7 ersichtlich ist, kommt es bei allen Dauerinfusionen auch nicht sofort bei Eintritt der Wirkung zur Bildung eines ständig erhöht bleibenden Blutdruckplateaus, sondern der Organismus gebraucht erst mehrfach Abwehrreaktionen zur Überwindung dieser Gleichgewichtsstörung bis zur Einstellung eines neuen gleichgewichtigen Zustandes. Die zu Beginn einer Dauerinfusion nach einer anfänglichen Steigerung der Esterasekonzentration zustande gekommene Senkung, die parallel der Blutdruckschwankung vor sich geht, zeigt, daß die mit jeder Blutdrucksteigerung einhergehende Vermehrung des Esterasegehalts des Blutes die durch Veritol oder Sympatol inhaftierte Esterasemenge kompensieren und für eine kurze Zeitdauer noch in einem solchen Grade darüber hinaus steigern kann, daß das Azetylcholinpotentialgefälle erhöht und der Blutdruck vorübergehend gesenkt werden kann. Nach Einstellung eines gleichmäßig erhöht bleibenden Blutdruckniveaus scheint dann die beschlagnahmte Menge an Cholinesterase konstant zu bleiben. Diese Auffassung erklärt aber noch nicht den der Betrachtung innewohnenden Widerspruch, den die Tatsache in sich schließt, daß zwar durch die Inaktivierung eines Teils der Esterase der Vagustonus herabgesetzt und der Blutdruck dadurch gesteigert worden ist, die im Blute frei wirksame Esterase aber gleichzeitig erhöht wird. Dieses paradoxe Verhalten zeigt, daß die Esterasehemmung im Blutserum bei konstanter

Fermentkonzentration durch die untersuchten Substanzen bei der blutdrucksteigernden Wirkung im lebenden Organismus nur als ein Symptom zu werten ist. Die vorliegenden Versuche bringen aber auch den Beweis dafür, daß je stärker die hemmende Wirkung ist, um so länger die blutdrucksteigernde Wirkung dauert. Es ist möglich, daß darum dem Veritol eine langanhaltende blutdrucksteigernde Wirkung zukommt.

Selbstverständlich könnte diese Auslegung der Tatsache, daß die Cholinesterase im Modellversuch von einzelnen gefäßwirksamen Substanzen gehemmt wird, im Tierversuch nur als Anreiz zur Gegenregulation durch die Senkung des Azetylcholinpotentialgefälles und damit Verminderung des Vagustonus zu Beginn einer Dauerinfusion verwertet werden. Obgleich man ja im Falle des Veritols feststellen kann, daß es gegenüber den anderen untersuchten Substanzen im Modellversuch eine stärkere hemmende Wirkung und im Tierversuch eine längere Nachwirkungszeit der Blutdrucksteigerung hat, so müssen doch weitere Schlüsse hieraus zu vagen Vermutungen führen, denn andere blutdrucksteigernde Pharmaka wie Cardiazol und Coramin haben gar keine Wirkung auf die Esterase im Modellversuch. Als Ergebnis der soeben besprochenen Versuche kann hier nur als allgemeingültig festgestellt werden, daß jedes untersuchte chemische Reagens, dem im lebenden Organismus eine blutdruckerhöhende Wirkung zukommt, was die Cholinesterase im Blute betrifft, ein Zustandsbild schafft, das dem physiologischen Vorgang bei einem Blutdruckanstieg gleicht. Ob dabei der Angriffspunkt eines solchen Stoffes in einer Verstärkung des adrenergischen Tonus, wie es für das Suprarenin, Veritol und Sympatol angenommen werden kann, zu suchen ist oder in einer veränderten Erregbarkeit des Vasomotorenzentrums, wie beim Cardiazol, begründet ist, scheint dabei keine Rolle zu spielen, denn die physiologischen Zustandsänderungen der pharmakologischen Wirkungen sind dabei stets die gleichen. Mit steigendem Blutdruck kommt es zu einer Vermehrung der Esterasekonzentration im Blutserum der Versuchstiere und bei sinkendem zu einer Abnahme. Im gleichen Sinne verhält sich auch die Herzfrequenz. Was das unterschiedliche Verhalten zwischen Modellversuchen und Tierversuchen angeht, so sind die Gründe hierfür weiterhin in Veränderungen physikalisch-chemischer Natur des Blutes, die die Oberflächenaktivität betreffen, zu suchen, wie dem einen von uns (Z.) aus bisher unveröffentlichten Versuchen bekannt ist.

Versuche mit k-Strophanthin und Digitoxin.

Bei allen bisher untersuchten Substanzen handelte es sich um Stoffe, die außer ihrer direkten hemmenden Wirkung auf die Cholinesterase noch eine Blutdrucksteigerung im Tierversuch zur Folge hatten. Der spezifische, direkt hemmende Einfluß der Pharmaka auf die Esterase trat dabei in den Hintergrund, und die mit den physiologischen Zustandsänderungen bei der

Blutdrucksteigerung im Zusammenhang stehenden Veränderungen der Esterasekonzentration im Blutserum waren allein maßgeblich. Aus diesem Grunde wurden k-Strophanthin und Digitoxin, deren Hauptangriffspunkt das Herz ist, im Modellversuch und Tierversuch geprüft. Aus den Versuchen in den Abb. 1, 2 und 3 läßt sich erkennen, daß dem k-Strophanthin eine hemmende Wirkung, die zwischen der von Suprifen und Veritol liegt, zugesprochen werden muß. In bezug auf die hemmende Wirkung des k-Strophanthins bei Modellversuchen mit Menschenblutserum ergibt sich somit kein wesentlicher Unterschied von den gefäßwirksamen Mitteln. Anders war dies nun im Tierversuch der Fall. Hier war es zunächst von großem Interesse festzustellen, ob auch ohne Veränderung der Blutdruckhöhe eine Zu- und Abnahme der Esterasekonzentration im Blutserum zustande kommen kann. Wie der Versuch von Abb. 8 zeigt, ist dies nur in einem geringeren Grade der Fall als bei einer Blutdruckänderung. Bei dem Leerversuch von Blutentnahme 1 mit Normalserum wurden im Warburg-Apparat nach 60 Minuten langer Versuchsdauer 495 cmm CO_2 gebildet. Infolge einer Dauerinfusion von 0,1 mg k-Strophanthin (die Katze wog 2,8 kg) wurden nur 475 cmm CO_2 frei, wie Blutentnahme 2 zeigt. Unter der Wirkung von 0,2 mg k-Strophanthin bei Blutentnahme 3 waren es noch 450 cmm CO_2. Nach der Infusion von 0,3 mg entwickelten sich 425 cmm CO_2. Bei der Darreichung der fast tödlichen Dosis von 0,35 mg aber im Stadium einer stark ausgebildeten Bradykardie, wie aus der gestrichelten Kurve von Abb. 8 zu ersehen ist, bei der auch bereits eine Senkung des Blutdrucks mit aufgetreten war, wurde der Esterasegehalt im Blutserum in einem Maße herabgesetzt, wie es bisher weder nach einer spontanen Blutdrucksenkung noch einer Senkung infolge elektrischer Vagusreizung beobachtet wurde. Es werden bei Blutentnahme 5 nur noch 125 cmm CO_2 gebildet. Diese starke Einschränkung des Fermentgehalts im Blutserum entstand durch das Zusammentreffen zweier Vorgänge, von denen jeder allein den Esterasegehalt im Blutserum herabzusetzen vermag, eines schnellen Blutdruckabfalls und einer ausgeprägten Bradykardie, infolge der die Herzfrequenz um 110 Schläge in der Minute von 185 auf 75 abgenommen hatte. Beim weiteren Fortschreiten der k-Strophanthinvergiftung kommt es zu einer erneuten Steigerung der Herzfrequenz, die mit einer Vermehrung des Esterasegehalts im Blutserum einhergeht. Das Serum von Blutentnahme 6 entwickelt 385 cmm CO_2, das von Blutentnahme 7 390 cmm und bei Blutentnahme 8 sind es 440 cmm. Ähnliche Befunde wie der Versuch in Abb. 8 zeigten Untersuchungen, die mit Digitoxin angestellt wurden.

Auf Grund der vorliegenden Versuchsergebnisse konnte festgestellt werden, daß solange eine Digitalisvergiftung bei intravenöser Zufuhr von k-Strophanthin oder Digitoxin ohne Beteiligung einer Senkung des Blutdrucks im Tierversuch vor sich geht, der Esterasegehalt im Blutserum von Katzen nur in geringem Maße herabgesetzt wird. Das zeigt der Verlauf

der 60-Minuten-Kurve in Abb. 8 von Blutentnahme 1 bis zu Blutentnahme 4. In diesem Stadium des Versuchs trat keine deutlich erkennbare Blutdrucksenkung auf. Durch die infundierte Menge von 0,3 mg k-Strophanthin wurden in diesem Falle nur 70 cmm CO_2 eingespart. Für diesen geringen Grad der Herabsetzung des Esterasegehalts im Blute kann die Digitaliswirkung allein verantwortlich gemacht werden. Daß es bei Beteiligung des Blutdrucks an der k-Strophanthinvergiftung zu einer gesteigerten Einschränkung des Esterasegehalts kommt, soll der Versuch von Abb. 9 zeigen. Hier senkt sich der Esterasespiegel nach einer Infusion von 0,3 mg k-Strophanthin von 990 bis zu 670 cmm gebildete CO_2. Da aber im Sinne dieser Ausführungen ein Teil der Hemmung der Esterase auf Kosten der mit jeder Blutdrucksenkung einhergehenden Abnahme der Esterasekonzentration geht, so ist auch in diesem Falle die k-Strophanthinwirkung auf die Esterase als gering anzusehen. Kommt aber bei einer vorgeschrittenen k-Strophanthinvergiftung ein kritischer Blutdruckabfall zustande, wie es bei Blutentnahme 5 des Versuchs von Abb. 8 der Fall war, kann der Esterasespiegel im Blute genau so schnell sinken. Eine solch maximale Einschränkung des Esterasegehalts des Blutes entsteht bei einem schnellen Blutdruckabstieg um so eher, da dieser rasch eintretende Verlust nicht in dem gleichen Maße durch Mobilisierung der Esterasereserven des Organismus ersetzt werden kann wie bei einer allmählich sich bildenden Blutdrucksenkung. Hieraus kann gefolgert werden, daß für die k-Strophanthin- oder Digitoxinwirkung nur ein kleiner Anteil der im Blute zur Verfügung stehenden frei wirksamen Esterase zum Aufbau eines hohen Azetylcholinpotentialgefälles an den Wirkungsorten der parasympathischen Nerven des Herzens gebraucht wird. Außerdem muß angenommen werden, daß ein großer Teil der zur Verstärkung der Vaguswirkung am Herzen mit Beschlag belegten Esterase aus den Reservebeständen des Gesamtorganismus im Blute ersetzt worden ist. Die letztere Vermutung erscheint um so gerechtfertigter, als bei der Durchführung der Versuche festgestellt werden konnte, daß bei Erregungszuständen aus der Narkose erwachter Tiere, bei denen der Herztod ohne die Ausbildung eines bradykardischen Stadiums eintrat, keine Herabsetzung des Esterasegehalts im Blutserum der Ver-

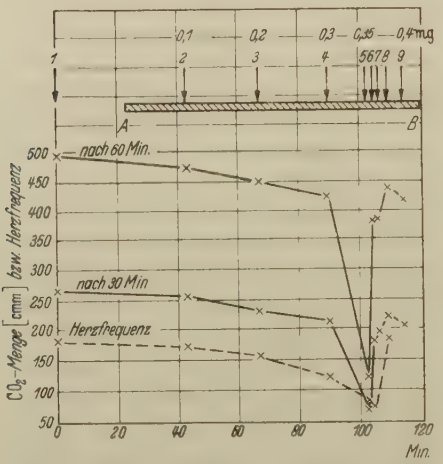


Abb. 8. Ordinate: gebildete CO_2-Menge in cmm nach 30 und 60 Minuten bzw. Herzfrequenz. Abszisse: Zeit in Minuten. Die mit Zahlen versehenen Pfeile zeigen die einzelnen Blutentnahmen an. Darüber die jeweils insgesamt infundierte k-Strophanthinmenge. *A* bis *B*: Dauer der k-Strophanthininfusion. Gewicht der Katze 2,8 kg.

suchstiere zustande kam. In einem solchen Falle nahm infolge einer entstandenen Blutdrucksteigerung trotz Digitoxinvergiftung die Esterasekonzentration im Blute zu. Nebenbei sei erwähnt, daß die Chloralosenarkose sowie der durch mehrmalige Blutentnahmen entstandene Blutverlust und die bei der Blutdruckmessung in die art. carot. infundierte Natriumcarbonatmenge den Esterasespiegel im Blute unbeeinflußt lassen, wie bereits früher[1] mitgeteilt wurde.

Betrachtet man in diesem Zusammenhange die geringen Unterschiede zwischen den gebildeten CO_2-Mengen, die ohne Beteiligung einer Blutdruckveränderung zustande kommen, so rechtfertigen sie die Richtigkeit

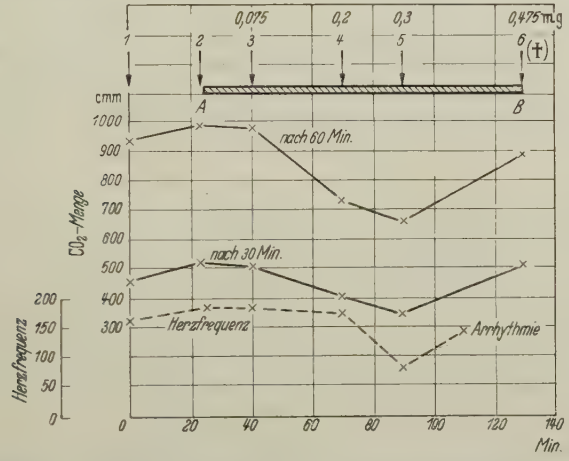


Abb. 9. Ordinate: gebildete CO_2-Menge in cmm nach 30 und 60 Minuten bzw. Herzfrequenz. Abszisse: Zeit in Minuten. Die mit Zahlen versehenen Pfeile zeigen die einzelnen Blutentnahmen an. Darüber die jeweils insgesamt infundierte k-Strophanthinmenge. *A* bis *B*: Dauer der k-Strophanthininfusion. Gewicht der Katze: 4,3 kg

der gemachten Annahme nicht allein dadurch, daß mit der Steigerung der zugeführten Menge der Esterasegehalt im Blute mehr und mehr zurückgeht. Vielmehr muß bei Versuchen an intakten Tieren in Betracht gezogen werden, daß der Herzvagus ja nur einen Teil des cholinergischen Nervensystems im Gesamtverband des Organismus darstellt. Man kann sich vorstellen, daß die Wirkung digitalisähnlicher Stoffe hauptsächlich darin besteht, daß durch ihre Anlagerung an die Nervenendzellen des Herzvagus mehr und mehr im Blute frei wirksame Esterase an den Wirkungsorten der parasympathischen Herznerven fest verankert wird. Durch die Anwesenheit einer gesteigerten Esterasemenge bildet sich dann ein erhöhtes Azetylcholinkonzentrationsgefälle, das in einer verstärkten Vaguswirkung zum Ausdruck kommt. Ein weiterer Grund für die geringe Senkung der Esterasekonzentration im Blutserum unter der Digitaliswirkung kann darin erblickt werden, daß durch die Anlagerung von Digitalisstoffen mit dem Fortschreiten der Vergiftung an den Zellgrenzflächen eine Permeabilitäts-

verminderung eintritt, die den Austausch der gebundenen und zu erneuter Wirkung frei werdenden Esterase am Wirkungsort der cholinergischen Nervenfasern mit dem umspülenden Blute hemmt. Kommt nun im Endstadium einer Digitalisvergiftung außerdem noch eine Senkung des Blutdrucks mit einer Erhöhung des Azetylcholinpotentialgefälles des gesamten cholinergischen Gefäßnervensystems, die erneut einen Teil der Esterase des Blutes beansprucht, zu dem erhöhten Bedarf der Vaguszellen am Herzen hinzu, dann sinkt der Esterasegehalt des Blutserums in einem Maße, wie es das Serum der Blutentnahme 5 von Abb. 8 zeigt. Versagt dann im Augenblick der totalen Vergiftung die übergeordnete cerebrale Regulation der Zellmembranpermeabilität, dann geht die Zelle jeglicher Steuerung an der Grenzfläche verlustig und die gesamte am Wirkungsort noch vorhandene Esterase, die zur Wirkung nicht mehr gebunden ist, gleicht sich mit ihrer Konzentration der des umspülenden Blutes an, und es kommt zu einer Steigerung des Esterasegehalts im Blutserum wie bei Blutentnahme 6, 7, 8 und 9 von Abb. 8.

Weiterhin zeigt die gestrichelte Kurve der Abb. 8, daß jede Steigerung des Azetylcholinpotentialgefälles am Wirkungsort der parasympathischen Nerven des Herzens eine Abnahme der Herzfrequenz zur Folge hat. Als Grund hierfür wird gleichfalls die Speicherung der Cholinesterase infolge der Abdichtung der Zellmembran durch die Digitaliswirkung, die den Ausgleich des Esterasespiegels zwischen dem Zellinnern und dem die Zelle umspülenden Blute entsprechend der zugeführten Menge an k-Strophanthin- oder Digitoxinsubstanz in mehr oder weniger starkem Maße hindert, angesehen.

Aus diesen Betrachtungen über das Zustandekommen der Esterase-abnahme unter k-Strophanthin und Digitoxin kann man ersehen, daß es sich hierbei weniger um die direkte Beeinflussung, die diesen Substanzen in bezug auf die Cholinesterase im Modellversuch zukommt, handelt, als um eine Stauung der Cholinesterase an den Wirkungsorten der parasympathischen Herzinnervation infolge einer Abdichtung der Zellgrenzflächen an den Nervenendigungen, die den Ausgleich der Esterase vom Wirkungsort der Zelle her in Richtung zum Blute hemmt. Die vermehrte Einschränkung des Esterasegehalts im Blute bei k-Strophanthin- oder Digitoxinvergiftungen, die gleichzeitig eine Blutdrucksenkung zur Folge haben, kann in diesem Zusammenhange mit einem Speicherungsvorgang an den Wirkungsorten cholinergischer Gefäßnervenendigungen erklärt werden.

Schlußbetrachtung.

Abschließend sei gesagt, daß die Rolle, die die Cholinesterase im lebenden Organismus bei der Bildung des Vagustonus spielt, in hervorragendem Maße von der Permeabilität der Zellgrenzflächen an den Wirkungsorten cholinergischer Nervenendzellen abhängig ist. Wie aus einer früheren

Arbeit[1] und den jetzt vorliegenden Versuchsergebnissen geschlossen werden kann, ändert sich diese mit der Höhe des Blutdrucks und der Herzfrequenz als Folge wechselnder Aktivität cerebraler Impulse, durch elektrische Vagusreizung, bei der Zufuhr blutdruckerhöhender und blutdruckerniedrigender Substanzen und von Digitalisstoffen. Es kann als wahrscheinlich angenommen werden, daß auch die anderen Pharmaka, deren Angriffspunkt im vegetativen Nervensystem zu suchen ist, die Steuerung der Cholinesterase durch Steigerung oder Verminderung der Permeabilität beeinflussen. Bei einem zentral angreifenden Mittel geschieht dies auf dem Wege über eine veränderte Aktivität des Vaguszentrums oder anderer cerebraler Anteile, die peripher zu Veränderungen an den Zellgrenzflächen führen. Andererseits verursachen solche Stoffe, deren Angriffspunkt wie beim k-Strophanthin und Digitoxin an den Wirkungsorten cholinergischer Nervenendzellen zu suchen ist, ähnliche Zustandsänderungen an den Zellmembranen. In beiden Fällen wird somit die Steuerung des Azetylcholinpotentialgefälles durch die Cholinesterase über den gleichen Vorgang reguliert.

Zusammenfassung.

1. Bei der Untersuchung der Wirkung einiger Herz- und Gefäßmittel auf die Cholinesterase des Menschenblutserums im Modellversuch (Warburg-Methodik) konnte festgestellt werden, daß Racedrin, Hexeton, Suprifen, Veritol und k-Strophanthin die Esterase hemmen, während Suprarenin, Sympatol, Cardiazol, Coramin dieses nicht bzw. nur in geringem Grade tun.

2. In Versuchen an Katzen mit Suprarenin-, Veritol-, Sympatol-, k-Strophanthin- und Digitoxindauerinfusion konnte nachgewiesen werden, daß jede Blutdruckerhöhung bzw. Steigerung der Herzfrequenz eine Vermehrung und jede Herabsetzung des Blutdrucks bzw. der Herzfrequenz eine Verminderung des Esterasegehalts im Blutserum zur Folge hat.

3. Die Unterschiede in den Wirkungen der Gefäß- und Herzmittel in vitro und in vivo werden erörtert.

Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Sofia.
(Direktor: Prof. Dr. D. P. Orahovats.)

Die Bedeutung der Blutgefäße und des Herzens für die Regulierung des Blutdruckes.

V. Mitteilung: Adrenalin. Wirkung auf die Blutgefäße, das Herz und den Blutdruck.

Von

T. Gotsev.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. Mai 1940.)

Schon aus den Arbeiten von Oliver und Schäfer (1) her ist bekannt, daß die Erhöhung des Blutdrucks, die nach Einspritzung von Extrakt des Markes der Nebenniere erfolgt, dem danach eintretenden starken Zusammenziehen der Blutgefäße der kleinen Arterien im Körper zuzuschreiben ist. Die späteren Untersuchungen auf diesem Gebiete ergaben die Feststellung, daß das Adrenalin eine starke Zusammenziehung der Blutgefäße der Bauchorgane hervorruft. Ogawa (2) fand, daß sich unter der Einwirkung des Adrenalins besonders stark die Blutgefäße des Dünndarms und der Nieren, diejenigen der Muskulatur und der Haut sich jedoch viel schwächer zusammenziehen.

Heutzutage wird allgemein angenommen, daß das Adrenalin eine Zusammenziehung der Blutgefäße des Körpers verursacht, die besonders stark im Splanchnicusgebiet ausgeprägt ist, während die Blutgefäße einiger anderer Organe (der Lunge, des Gehirns, der Skeletmuskeln) weniger empfindlich gegen Adrenalin sind [Meyer-Gottlieb (3)]. Aus den Untersuchungen von Gollwitzer-Meier (4), Fleisch (5) u. a. ging deutlich hervor, daß das Adrenalin außer den Arterien auch die Kapillaren und Venen zusammenzieht. Eine Ausnahme in dieser Beziehung machen die Koronargefäße, von denen man weiß, daß sie sich unter der Einwirkung des Adrenalins erweitern. Die Untersuchungen von Maas (6), Anrep (7) und anderen Verfassern haben zu der Feststellung geführt, daß die dilatatorischen Fäden für die Koronargefäße vom Sympathicus, und die konstriktorischen vom N. vagus kommen.

Rosenow (8) stellte durch plethysmographische Untersuchungen fest, daß bei Einspritzung von Adrenalin manchmal Erweiterung der Blutgefäße der Arme eintreten kann. Danielopolu (9) konstatiert, daß das

Adrenalin je nach der angewendeten Dosis eine verschiedene Wirkung auf den Zustand der Blutgefäße ausüben kann. Er hat gefunden, daß die kleinen Dosen von Adrenalin Zusammenziehung und die großen Erweiterung der Gefäße hervorrufen. Szakall (10) bestätigte die Ergebnisse der Versuche von Danielopolu und zeigte, daß das Adrenalin eine aktive Erweiterung einiger Blutgefäße und nicht nur druckpassive Erweiterung zeitigen kann.

An Hand von Versuchen, die an 101 Hunden und 10 Katzen vorgenommen wurden, untersuchten Orahovats und Gotsev (11) (12) die Veränderungen im Zustand der Blutgefäße des Dünndarms, der Milz und der Extremitäten, sowie auch die Veränderungen im Blutdruck bei intravenöser und intraarterieller Verabfolgung von Adrenalin in den verschiedensten Dosen. Sie haben gefunden, daß die Wirkung des Adrenalins vor allem von der Stelle abhängt, an welcher die Einspritzung vorgenommen wird. Wenn das Adrenalin in die A. mesenterica sup. eingeführt wird, so erfolgt in allen Fällen Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms, spritzt man aber das Adrenalin in die V. jugularis ext. ein, so tritt in ungefähr $^2/_3$ der Fälle Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und nur in etwa $^1/_3$ der Fälle Zusammenziehung der Blutgefäße ein. Bei der Zuführung von ein und derselben Dosis Adrenalin an zwei verschiedenen Stellen (A. mesenterica sup. und V. jugularis ext.) an ein und demselben Tier haben Orahovats und Gotsev zwei einander entgegengesetzte Reaktionen der Blutgefäße des Dünndarms beobachtet — Zusammenziehung und Erweiterung. Hierbei haben sie auch festgestellt, daß auch die Blutgefäße der Extremitäten bei den verschiedenen Individuen auf venös eingeführtes Adrenalin verschiedenartig reagieren: bei manchen Tieren tritt Zusammenziehung, bei anderen Erweiterung auf. Die Größe der Dosis hat keinerlei Einfluß auf die Art (Vasokonstriktion oder Vasodilatation), auf welche das in Frage kommende Gefäßgebiet reagiert. Ebenso sind auch künstlich geschaffene Veränderungen, wie Veränderungen in p_H des Blutes, Enthaupten des Tieres, Atropinisierung, Erzeugung von Asphyxie und Hyperventilatio u. a., ohne Bedeutung für die Art der Wirkung des Adrenalins auf die Blutgefäße. Ein Tier, das auf intravenös eingeführtes Adrenalin mit Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms reagiert, wird auf dieselbe Weise bei der Anwendung gleichviel welcher Dosen Adrenalin und bei Erzeugung verschiedener experimenteller Veränderungen reagieren. Hingegen wird eine Individualität in bezug auf die Art, wie die Blutgefäße der einzelnen Tiere reagieren, festgestellt: bei manchen erfolgt Zusammenziehung, bei anderen Erweiterung. Durch mehrfache Untersuchungen an ein und demselben Tier in Abständen von einigen Tagen hat Gotsev (13) festgestellt, daß sich die Art, wie ein Tier auf Adrenalin reagiert, nach einer gewissen Zeitspanne verändern kann; so vermag also ein Tier, das einmal die eine Reaktion der Blutgefäße des Dünndarms aufgewiesen hat (z. B. Erweiterung), nach einigen Tagen

auf dieselbe Dosis Adrenalin hin die entgegengesetzte Reaktion (Zusammenziehung) zu zeigen.

Was den Einfluß des Adrenalins auf das Herz betrifft, so ist allen seine positive chronotrope und inotrope Wirkung bekannt, die sich sowohl am isolierten Herzen, wie auch am Herzen vom ganzen Tier und Menschen kundgibt.

Bezüglich der Erhöhung des Blutdrucks, die regelmäßig unter der Einwirkung des Adrenalins eintritt, nimmt man gewöhnlich an, daß sie einerseits vom Einfluß des Adrenalins auf die Herzleistung, andererseits von der Erhöhung des Widerstandes der Blutgefäße, die besonders stark vor allem im Splanchnicusgebiet ausgeprägt ist, bedingt ist. Das Absinken des Blutdrucks, das manchmal bei der Anwendung kleiner Dosen Adrenalin bei Katzen beobachtet wird, läßt sich durch eine wahrscheinlich erfolgende Erweiterung der Blutgefäße der Innenorgane und der Extremitäten erklären.

Wenn man die Kurve betrachtet, die Oliver und Schäfer (1) in ihrer Arbeit über die Wirkung der Nebennierenextrakte geben, so wird man sehen, daß gleichzeitig mit der Abnahme des Umfanges der Niere eine leichte Vergrößerung des Umfanges der beiden Extremitäten einsetzt. Folglich haben schon Oliver und Schäfer eine gleichzeitig mit Zusammenziehung der Nierengefäße erfolgende Erweiterung der Blutgefäße der Extremitäten festgestellt.

In der vorliegenden Arbeit haben wir uns zur Aufgabe gestellt, die Beziehung zwischen den Veränderungen im funktionellen Zustande der Blutgefäße der Nieren, des Dünndarms, der Milz und der Extremitäten einerseits und den Veränderungen im Niveau des Blutdrucks andererseits zu untersuchen, sowie auch die Veränderungen im Niveau des Blutdrucks, die bei Tieren eintreten, bei denen große Gefäßgebiete vom gesamten Blutkreislauf ausgeschlossen wurden, und schließlich die Beziehung, die zwischen den Veränderungen in der Herztätigkeit und denjenigen im Blutdruck nach intravenöser, intraarterieller und intraaortaler Anwendung von Adrenalin besteht.

Die Versuche wurden an Hunden und Schafen angestellt, die mittleren Alters waren. Die Hunde wurden mit Luminal-Natrium, die Schafe mit Morphin-Äther narkotisiert. Die Technik ist dieselbe wie die in den ersten vier Mitteilungen angegebene. Die Veränderungen in der Blutfüllung der einzelnen Bauchorgane wurden mit Hilfe der Onkographen von Orahovats und Popoff, diejenigen der Extremitäten vermittels Plethysmographen untersucht. Der Blutdruck wurde gleichzeitig mit dem Registrieren der Veränderungen in den Blutgefäßen nach der Methode von Ludwig mit offenem Quecksilbermanometer registriert. Die Adrenalinlösungen wurden immer frisch von gerade geöffneten Ampullen hergestellt. Alle Versuche wurden an ganzen Tieren ausgeführt.

Ergebnisse.

A. Blutgefäße.

I. Intravenöse Einspritzung.

1. Nieren. Unter der Einwirkung des intravenös eingespritzten Adrenalins tritt Zusammenziehung der Blutgefäße der Nieren ein. Die Zusammenziehung erfolgt 1—2 Sekunden nachdem der Blutdruck angefangen hat zu steigen. Die Gefäßreaktion ist gewöhnlich stark ausgeprägt, und das Organ nimmt bedeutend an Umfang ab. Die Veränderung dauert verschieden lange (je nach der angewandten Dosis), wonach das Organ sich langsam zu entspannen beginnt, sein ursprüngliches Ausgangsniveau erreicht und es in den meisten Fällen überholt, so daß eine sekundäre

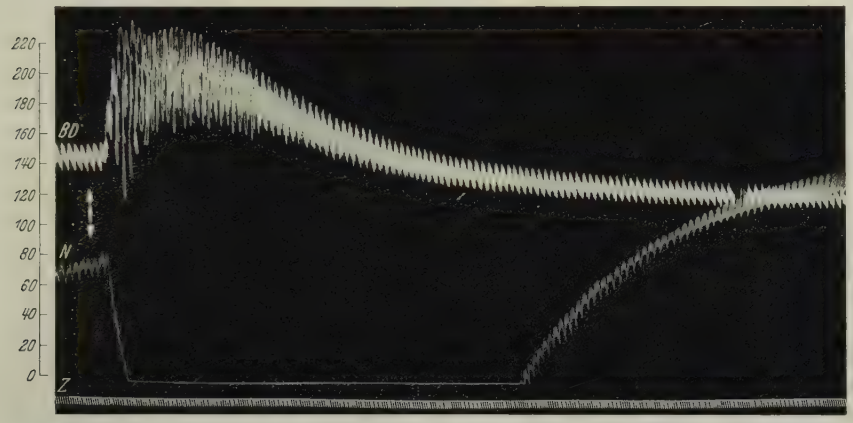


Abb. 1. 12. Januar 1940. Hund, 9 kg, ♀. *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *N* = Nierenvolumen *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ↕ wurde $^1/_{10}$ mg Adrenalin in die V. jugularis ext. injiziert.

Erweiterung der Gefäße erfolgt und als Ergebnis eine Zweiphasen-Veränderung — vorübergehende Zusammenziehung und darauffolgende Erweiterung — eintritt. Was die Zeitdauer der Gefäßzusammenziehung betrifft, so muß hervorgehoben werden, daß sie von der Veränderung im Blutdruckniveau unabhängig ist: in einigen Fällen geht die Vasokonstriktion vorüber, bevor noch der Blutdruck angefangen hat zu sinken, in anderen Fällen wiederum dauert sie noch geraume Zeit an, nachdem der Blutdruck auf das Ausgangsniveau gesunken ist. Überhaupt wird eine ursächliche Abhängigkeit der Veränderung im Blutdruckniveau von derjenigen in den Blutgefäßen der Nieren nicht festgestellt.

Das Ergebnis eines typischen Falles ist auf Abb. 1 dargestellt, wo unter der Einwirkung von $^1/_{10}$ mg Adrenalin, in die V. jugularis ext. eingespritzt, eine stark ausgeprägte Zusammenziehung der Blutgefäße der Niere eintritt. Infolgedessen zieht sich die Kapsel von Marey höchstmöglich zusammen und der Hebel registriert eine horizontale Linie. Der Blutdruck steigt auf

typische Weise und fällt, bevor noch die Abnahme des Umfanges der Niere vorübergegangen ist. Nachdem die anfängliche Zusammenziehung der Nierengefäße vorbei ist, erfolgt eine sekundäre Erweiterung. Bemerkenswert ist, daß der Blutdruck in diesen Fällen, trotz der Erweiterung der Gefäße, sein normales Niveau beibehält.

2. Dünndarm. Auch bei diesen Versuchen, wie bei denjenigen von Orahovats-Gotsev (11) (12) stellt man viel häufiger Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms als Zusammenziehung dersel-

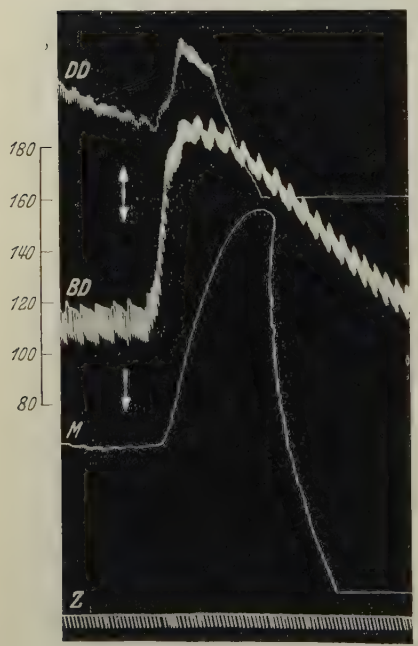


Abb. 2. 24. November 1939. Hund, 6 kg, ♀. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *M* = Milzvolumen, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ↕ wurden $^1/_{20}$ mg Adrenalin in die V. jugularis ext. injiziert.

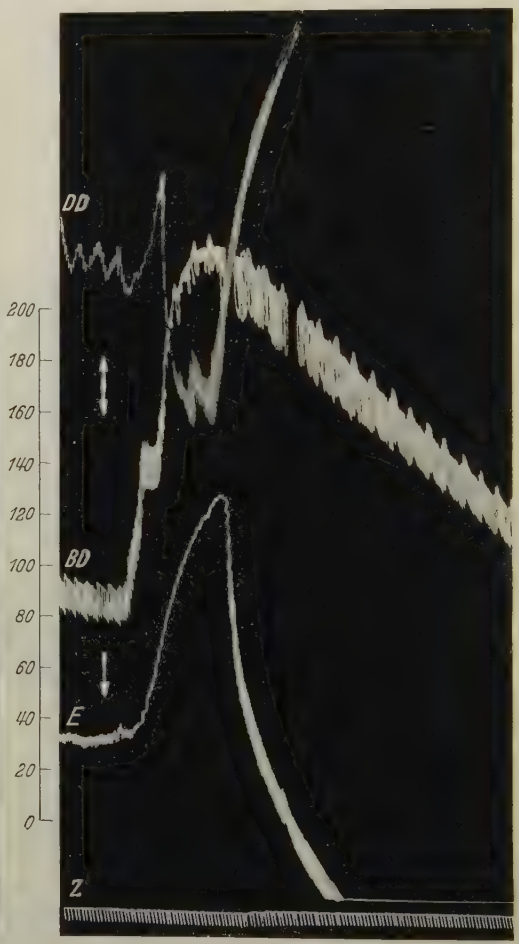


Abb. 3. 18. Dezember 1939. Hund, 10 kg, ♀. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *E* = Extremitätsvolumen, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ↕ wurde $^1/_{10}$ mg Adrenalin in die V. jugularis ext. injiziert.

ben fest. Die Erweiterung ist gewöhnlich sehr gut ausgeprägt und verläuft gleichzeitig mit der Erhöhung des Blutdrucks, wobei sie in einigen Fällen kürzere Zeit, in anderen längere Zeit anhält, als die Veränderung im Blutdruck. Manchmal werden Zweiphasen-Reaktionen der Blutgefäße beobachtet,

die sich in anfänglicher Erweiterung, gefolgt von sekundärer Zusammenziehung, oder umgekehrt in vorübergehender Zusammenziehung und darauffolgender Erweiterung äußern. Wenn die Erweiterung der Blutgefäße stärker ausgeprägt ist, wie dies gewöhnlich der Fall ist, so kann man sie mit dem Auge, ohne jede Apparatur, erkennen; der Dünndarm färbt sich rot und pulsiert in verstärktem Maße. Was hier erwähnt zu werden verdient, ist, daß der Blutdruck auf eine der angewendeten Dosis entsprechende Höhe steigt, unabhängig davon, ob sich die Blutgefäße zusammenziehen oder erweitern, und außerdem, daß die Veränderung im Zustand der Blutgefäße unabhängig davon verläuft, wie lange die Veränderung im Niveau des Blutdrucks anhält, d. h., sie kann längere oder kürzere Zeit andauern.

Auf Abb. 2 ist ein Fall dargestellt, in dem das Adrenalin eine Zweiphasen-Veränderung hervorruft — eine vorübergehende Erweiterung, gefolgt von Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms. Auf Abb. 3 ist das Ergebnis eines anderes Versuches wiedergegeben, bei welchem das Adrenalin eine Zweiphasen-Reaktion verursacht, die sich in vorübergehender Zusammenziehung und sekundärer Erweiterung äußert.

3. Milz. In allen Fällen zeitigt das Adrenalin die bekannte Zusammenziehung der Milz, welch letztere rauh und körnig wird und bedeutend an Umfang abnimmt. Die Zusammenziehung der Milz tritt auch bei der Anwendung der kleinsten Dosen ein, die kaum merkliche Veränderungen im Niveau des Blutdrucks erzeugen. Die Zusammenziehung setzt plötzlich ein, erreicht schnell ihren Höhepunkt und geht allmählich vorüber; manchmal dauert sie länger als die Veränderung im Niveau des Blutdrucks. Es gibt Fälle, in denen der Zusammenziehung der Milz eine schwächere oder stärkere vorübergehende Erweiterung des Organs vorhergeht. Ein solcher Fall ist auf Abb. 2 dargestellt.

4. Extremitäten. Die Blutgefäße der Extremitäten zeigen, wie dies auch bei den Versuchen von Orahovats und Gotsev (11), (12) festgestellt wurde, ebenfalls verschiedene Veränderungen bei venöser Einspritzung von Adrenalin. Bei manchen Tieren tritt Zusammenziehung, bei anderen Erweiterung ein. Sehr häufig wird Zweiphasen-Veränderung beobachtet, die in anfänglicher Erweiterung, gefolgt von Zusammenziehung der Blutgefäße der Extremitäten zum Ausdruck kommt; ein solcher Fall ist auf Abb. 3 dargestellt. Die ganze Veränderung im Zustand der Extremitäten dauert gewöhnlich länger als die Veränderung im Niveau des Blutdrucks. Sehr oft beobachtet man Fälle, in denen der Blutdruck, nachdem er bis zu der entsprechenden Höhe gestiegen ist, auf das Ausgangsniveau abgesunken ist, obwohl die Veränderung im Zustand der Blutgefäße der Extremitäten noch nicht beendet ist und die Blutgefäße noch stark zusammengezogen sind.

Die Veränderungen in den Blutgefäßen der Nieren, des Dünndarms und der Extremitäten sowie die Veränderung im Umfange der Milz

erfolgen gewöhnlich 1—2 Sekunden nach dem Beginn der Blutdrucksteigerung; in keinem einzigen Falle gehen diese Veränderungen denjenigen im Blutdruck voraus.

II. Intraarterielle Einspritzung.

In die Art. femoralis. Wenn man das Adrenalin in die A. femoralis der einen Extremität des Tieres einspritzt, so tritt eine Zusammenziehung der Blutgefäße derselben Extremität ein. Dies wird in ausnahmslos allen Fällen beobachtet, und zwar hängt es nicht von den angewendeten Dosen ab. Die Blutgefäße der Extremität, in welche das Adrenalin eingespritzt wird, reagieren mit Zusammenziehung sowohl bei Anwendung der kleinsten wie auch beim Gebrauch größerer Dosen Adrenalin. Die Veränderung in den Blutgefäßen setzt unmittelbar nach der Einspritzung der Lösung ein, d. h. 1—3 Sekunden danach, erreicht allmählich ihren Höhepunkt und dauert annähernd so lange, wie die Veränderung im Blutdruck. Der letztere fängt nicht sofort, nachdem die Zusammenziehung eingetreten ist, zu steigen an, sondern nach einem Zeitraum von mindestens 4—5 Sekunden. Gleichzeitig mit dem Beginn der Blutdrucksteigerung oder 1—2 Sekunden später erfolgt eine Veränderung auch im Zustand der Blutgefäße der übrigen drei Extremitäten, die sich nicht in Zusammenziehung, sondern in Erweiterung äußert. Es werden also bei der Verabfolgung von Adrenalin in die Arterie der einen Extremität des Tieres in den Blutgefäßen derselben Extremität und in denjenigen der übrigen drei Extremitäten gleichzeitig zwei einander entgegengesetzte Veränderungen — Zusammenziehung und Erweiterung — beobachtet. Unter der Einwirkung ein und desselben Stoffes ergeben sich zwei verschiedene Veränderungen im funktionellen Zustande der Blutgefäße der Extremitäten: Während die Blutgefäße der einen Extremität zusammengezogen sind, sind diejenigen der anderen drei Extremitäten erweitert.

In die Aorta abdominalis. Wenn das Adrenalin in den unteren Teil der Aorta abdominalis eingespritzt wird, so tritt in den beiden hinteren Extremitäten Zusammenziehung der Blutgefäße ein, die auf dieselbe Weise wie bei der Verabfolgung des Adrenalins in die Art. femoralis verläuft. Einige Sekunden (5—6) später erfolgt Erhöhung des Blutdrucks, und gleichzeitig hiermit setzt eine Veränderung in den Blutgefäßen auch der vorderen zwei Extremitäten ein, welche dieselbe ist wie die bei arterieller Einspritzung des Adrenalins in die eine Extremität, nämlich Erweiterung. Bei der Zuführung des Adrenalins in den unteren Teil der Aorta abdominalis werden zwei verschiedene Veränderungen im Zustande der Blutgefäße der vorderen und hinteren Extremitäten beobachtet: während in den hinteren Extremitäten Zusammenziehung erfolgt, tritt in den vorderen Erweiterung ein.

In die Aorta thoracica. Spritzt man das Adrenalin in die Aorta thoracica, so erfolgt eine Zusammenziehung der Blutgefäße der Nieren, des Dünndarms und der hinteren Extremitäten und Zusammenziehung der Milz.

Aus dem oben Dargelegten geht also klar hervor, daß bei intraarterieller und intraaortaler Verabfolgung von Adrenalin Zusammenziehung der Blutgefäße derjenigen Organe eintritt, durch welche das Adrenalin direkt nach der Einspritzung hindurchgeht, und Erweiterung der Blutgefäße von denjenigen Organen, zu denen das Adrenalin gelangt, nachdem es durch das Herz hindurchgegangen ist.

Einen solchen Unterschied in der Art der Wirkung auf die Blutgefäße stellen wir auch bei der Einspritzung anderer Stoffe fest, wie Histamin,

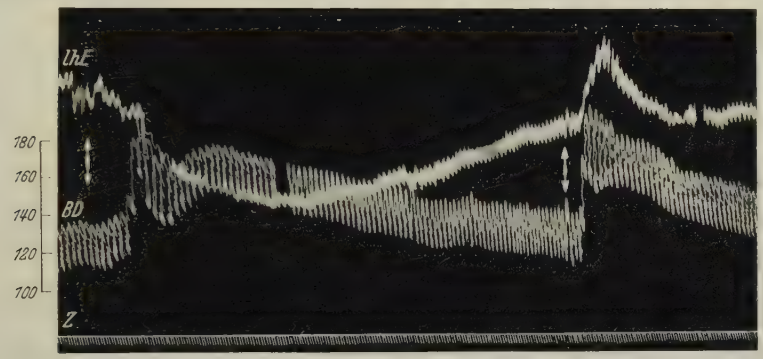


Abb. 4. 11. Februar 1940. Hund, 15 kg, ♂. *ThE* = Volumen der linken hinteren Extremität, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ↕ links wurde $^1/_{100}$ mg Adrenalin in die A. femoralis sinistra injiziert, bei ↕ rechts wurde dieselbe Dosis Adrenalin in die V. jugularis ext. injiziert.

Azetylcholin, Ephedrin u. a. Je nach der Stelle, wo einige dieser Stoffe eingespritzt werden (Vene oder Arterie), erfolgt die eine oder die andere Veränderung im Zustande der Blutgefäße.

Wenn zur Zeit des Versuches ein und demselben Tier Adrenalin in gleichen Dosen zweimal eingespritzt wird, das erste Mal in die A. femoralis der einen Extremität, das zweite Mal in die V. femoralis derselben Extremität oder die V. jugularis ext., und zwar einige Minuten später, nachdem die Wirkung des zuerst eingespritzten Adrenalins vorübergegangen ist, so treten nacheinander zwei verschiedene Reaktionen der Blutgefäße der Extremität ein: bei arterieller Verabfolgung Zusammenziehung und bei venöser — Erweiterung. Dasselbe wird auch dann beobachtet, wenn man das Adrenalin zuerst in die V. femoralis oder V. jugularis und danach in die Arterie der Extremität einspritzt. Das Ergebnis eines solchen Falles ist auf Abb. 4 dargestellt, wo bei dem Experiment an einem Hund zu Beginn des Ver-

suches $^1/_{100}$ mg Adrenalin in die Art. femoralis der linken hinteren Extremität eingespritzt wurde. Als Folge hiervon trat Zusammenziehung der Blutgefäße derselben Extremität ein. Einige Minuten später, als die Wirkung des Adrenalins schon vorüber war, verabfolgte man demselben Tier in die V. jugularis ext. die gleiche Dosis Adrenalin; als Ergebnis hiervon zeigte sich Erweiterung derselben Blutgefäße. In diesem Falle werden unter der Einwirkung zweier gleicher Dosen Adrenalin zwei verschiedene Veränderungen im Zustande der Blutgefäße — Zusammenziehung und Erweiterung — gezeitigt. Der Blutdruck steigt sowohl in dem einen wie auch in dem anderen Falle, und der Umstand, dem besondere Beachtung geschenkt werden muß, ist der, daß der Blutdruck, trotz der Erweiterung der Blutgefäße der Extremität, sogar um einige Millimeter höher steigt als dies bei Zusammenziehung derselben Gefäße geschieht. Außerdem ist auch die Tatsache interessant, daß bei zwei verschiedenen Veränderungen im Zustand der Gefäße — Zusammenziehung und Erweiterung — ein und dieselbe Veränderung im Niveau des Blutdrucks, nämlich Steigerung, erfolgt.

B. Blutdruck.

Bei der Einspritzung von Adrenalin erfolgt die bekannte Steigerung des Blutdrucks. Eine Ausnahme hiervon, d. h. Absinken des Blutdrucks, haben wir in keinem einzigen Falle beobachtet.

Nach der intravenösen Anwendung von Adrenalin beginnt die Veränderung in der Höhe des Blutdrucks nach einer Latenzzeit von 3—5 Sekunden von der Einspritzung der Lösung in die Vene an. Bei Verabfolgung des Adrenalins in die V. femoralis ist diese Latenzzeit etwas länger — 4—5 Sekunden. Wenn das Adrenalin in die Art. femoralis eingespritzt wird, ist die Latenzzeit noch länger — 5 -9 Sekunden, und bei Verabfolgung in den unteren Teil der Aorta abdominalis beträgt sie 6—10 Sekunden. In den Fällen, in denen das Adrenalin in den Anfangsteil der Aorta thoracica eingespritzt wird, setzt die Steigerung des Blutdrucks in den meisten Fällen 3—4 Sekunden nach der Verabfolgung ein. Es gibt jedoch Fälle, in denen der Blutdruck erst 15—20 Sekunden nach der Einspritzung von Adrenalin zu steigen beginnt.

Versuche mit eviscerierten Tieren und Tieren mit verkürztem Blutkreislauf.

In einer Reihe von Versuchen wurde die Wirkung des Adrenalins auf den Blutdruck vor und nach Eviscerierung der Tiere untersucht. Zu diesem Zwecke wurden alle Bauchorgane herausgeschnitten und herausgenommen, mit Ausnahme der Leber, die vermittels Anlegen von Ligaturen an die zuführenden und abführenden Blutgefäße vom Blutkreislauf aus-

geschlossen wurde. In den Fällen, in denen dies ohne großen Blutverlust für das Tier vor sich ging, behielt der Blutdruck sein normales Niveau bei. Auf diese Weise hatten wir die Möglichkeit, die Wirkung von gleichen Dosen Adrenalin auf den Blutdruck ein und desselben Tieres vor und nach der Eviscerierung zu vergleichen. Wenn die Veränderung, die das Adrenalin im Zustande der Blutgefäße der Bauchorgane verursacht, wirklich eine der Hauptursachen für die Erhöhung des Blutdrucks ist, so muß man erwarten, daß die Anwendung derselben Dosis Adrenalin beim eviscerierten Tier eine schwächere Blutdrucksteigerung hervorrufen wird als bei einem Tier mit unversehrten Bauchorganen.

Die Ergebnisse der Versuche jedoch zeigten, daß gleiche Dosen Adrenalin dieselben Veränderungen im Blutdruckniveau sowohl bei eviscerierten wie auch bei Tieren mit unversehrten Bauchorganen zeitigen. Nicht der geringste Unterschied im Ausmaße der Blutdrucksteigerung ist zu bemerken.

In einer anderen Versuchsreihe wurde die Wirkung des Adrenalins nach Ausschließung großer Gefäßgebiete vom Gesamtblutkreislauf untersucht. Zu diesem Zwecke wurden nach Enthauptung der Tiere, ausgeführt nach der Methode von Orahovats (14), ohne Blutverlust und ohne Absinken des Blutdrucks, die beiden A. a. subclaviae und Aorta abdominalis in ihrem unteren Teil unterbunden. Auf diese Weise wird ein großer Teil der Muskulatur des Körpers vom Gesamtblutkreislauf ausgeschlossen. Die Ergebnisse auch dieser Versuche zeigten, daß das Adrenalin dieselbe Veränderung auf den Blutdruck des Tieres mit verkürztem Blutkreislauf wie auch auf den eines Tieres mit unversehrtem ganzem Blutkreislauf erzeugt, ohne daß irgendein wesentlicher Unterschied bemerkt werden könnte.

Die Beziehung zwischen den Veränderungen in der Herztätigkeit und denjenigen im Blutdruck.

In Versuchen an Hunden wurde die Beziehung zwischen den Veränderungen in der Herztätigkeit und denjenigen im Blutdruckniveau untersucht. Die Veränderung in der Herztätigkeit wurde vermittels Registrierung des Intracardialdruckes festgestellt. Zu diesem Zweck verwendete man den Tonographen, der in die linke Kammer durch die Muskulatur des Brustkorbes eingeführt wurde. Gleichzeitig mit dem Tonogramm wurde auch das Niveau des Blutdrucks registriert, indem man die Spitzen der beiden auf dem Kymographen registrierenden Hebel untereinander stellte, so daß man die Zeit des Einsetzens der Veränderungen beurteilen konnte.

In allen Fällen wurde festgestellt, daß nach der Einspritzung von Adrenalin die bekannte Beschleunigung und Zunahme der Herztätigkeit eintritt. Diese Veränderung verläuft parallel mit der Veränderung im Blutdruck. Die Höhe der Blutdrucksteigerung ist in völliger Abhängigkeit

von dem Ausmaß der Herztätigkeit. Gleichzeitig mit der Zunahme der Herztätigkeit beginnt auch die Steigerung des Blutdrucks, und wenn die Herztätigkeit ihren Höhepunkt erreicht, gelangt auch der Blutdruck auf sein höchstes Niveau und behält es solange bei, bis die Herztätigkeit abzunehmen beginnt. Die Abnahme der Herztätigkeit verläuft mit dem Absinken des Blutdrucks, und erst wenn die Herztätigkeit ihr ursprüngliches Ausmaß erreicht hat, gelangt der Blutdruck zu seinem Ausgangsniveau zurück. Mit anderen Worten: man stellt die gleichen Veränderungen in der Herztätigkeit und im Niveau des Blutdrucks unter der Einwirkung des Adrenalins fest.

Auf Abb. 5 ist ein Fall dargestellt, in dem die Veränderungen in der Herztätigkeit und diejenigen im Blutdruck nach intravenöser Verabfolgung von $^1/_{10}$ mg Adrenalin gleichzeitig registriert worden sind. Man sieht, daß

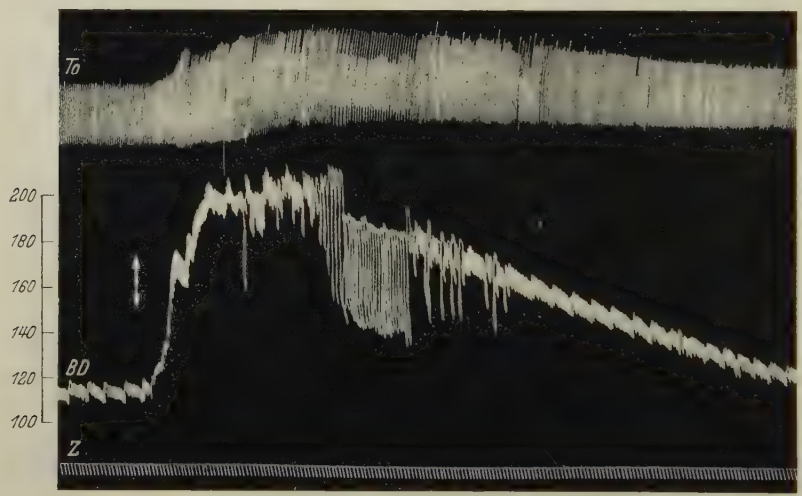


Abb. 5. 14. Dezember 1939. Hund, 15 kg, ♀. *To* = Tonogramm der linken Kammer, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *Z* = Zeit in Sekunden. Bei ↕ wurde $^1/_{10}$ mg Adrenalin in die V. jugularis ext. injiziert.

unmittelbar nach der Einspritzung von Adrenalin eine Beschleunigung und Förderung der Herztätigkeit eintritt, da die Höhe der einzelnen Tonogramme immer höher und höher wird. Gleichzeitig hiermit fängt der Blutdruck an zu steigen und fährt solange fort zu steigen, bis die Zunahme der Herztätigkeit ihren Höhepunkt erreicht. Gleichzeitig mit dem Beginn der Abnahme der Größe der Herztätigkeit fängt auch der Blutdruck an zu sinken, welch letzterer sein Ausgangsniveau erst dann erreicht, wenn die Herztätigkeit normalisiert ist. Es besteht ein vollkommener Gleichlauf zwischen den beiden Veränderungen und eine völlige Abhängigkeit der Veränderungen im Blutdruck von denjenigen in der Herztätigkeit.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus dem bisher Dargelegten geht deutlich hervor, daß das Adrenalin in weitaus nicht allen Fällen Zusammenziehung der Blutgefäße der Bauchorgane und der Muskulatur hervorruft, wie dies gewöhnlich angenommen wird. Allerdings ziehen sich die Milz und die Blutgefäße der Nieren regelmäßig zusammen, aber in den Blutgefäßen des Dünndarms und der Extremitäten erfolgt viel häufiger Erweiterung und in selteneren Fällen Zusammenziehung. Sehr oft beobachtet man Erweiterung der Blutgefäße der beiden großen Gefäßgebiete Dünndarm und Extremitäten, und zwar gleichzeitig mit Erhöhung des Blutdrucks. Dieses widerspricht unseren bisherigen Kenntnissen bezüglich des Einflusses des Adrenalins und der Regulierung des Blutdrucks überhaupt. Gewöhnlich wird angenommen, daß die Erhöhung des Blutdrucks das Ergebnis von Erhöhung des Widerstandes in den Blutgefäßen der großen Gefäßgebiete ist, und was speziell das Adrenalin betrifft, so nimmt man an, daß dieser Widerstand am größten im Splanchnicusgebiet ist. Bei den Versuchen mit Adrenalin beobachtet man regelmäßig Erhöhung des Blutdrucks, unabhängig davon, ob Zusammenziehung oder Erweiterung der Gefäße des Dünndarms und der Extremitäten eintritt. Wenn z. B. die Einspritzung einer bestimmten Dosis Adrenalin in die V. jugularis ext. eine Erhöhung des Blutdrucks von, sagen wir, 80 mm hervorruft, so wird die Verabfolgung derselben Dosis Adrenalin in die Aorta abdominalis desselben Tieres wieder Erhöhung des Blutdrucks von 80 mm verursachen, unabhängig von dem Umstand, daß im ersteren Falle die meisten Gefäßgebiete mit Erweiterung reagieren, im zweiten Falle aber mit Zusammenziehung. Ebenso wird die Einspritzung gleicher Dosen Adrenalin einmal in die V. jugularis und ein anderes Mal in die Aorta thoracica desselben Tieres die in bezug auf Größe gleichen Veränderungen im Niveau des Blutdrucks erzeugen, unabhängig davon, daß sich im ersteren Falle große Gefäßgebiete erweitern und im zweiten Falle sich zusammenziehen.

Wenn die Veränderung im Widerstand der Blutgefäße des Splanchnicusgebietes wirklich einer der Hauptfaktoren ist, der die Veränderung im Blutdruckniveau bedingt, welcher ist dann der Faktor, der den Blutdruck in denjenigen Fällen verändert, in denen die Blutgefäße des Splanchnicusgebietes eine Erweiterung erfahren? Es ist bekannt, daß bei der Einspritzung von Adrenalin eine vorübergehende anfängliche Vergrößerung des Milzumfanges eintreten kann, auf welche eine Zusammenziehung folgt. Wie wir gesehen haben, erweitern sich auch, unmittelbar nach der Verabfolgung von Adrenalin, die Blutgefäße des Dünndarms. Es kommen Fälle vor, in denen bei ein und demselben Tier anfänglich Vergrößerung des Milzumfanges und gleichzeitig hiermit Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms eintreten. Ein solcher Fall ist auf Abb. 2 dargestellt, wo gleichzeitig mit der Erhöhung des Blutdrucks auch eine vorübergehende

starke Vergrößerung des Milzumfanges und Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms vor sich gehen. Es ist klar, daß in solchen Fällen zu Beginn der Steigerung des Blutdrucks keine Erhöhung des Widerstandes im Splanchnicusgebiet vorhanden ist, sondern ganz im Gegenteil eine Herabsetzung des Widerstandes eintritt. Die Ursache für die Blutdrucksteigerung kann in diesen Fällen nicht in erhöhtem Widerstand infolge Zusammenziehung der Gefäße des Splanchnicusgebietes gesucht werden, da eine solche Erhöhung des Widerstandes in diesen Fällen nicht erfolgt. Es ist wahr, daß, wenn sich die Blutgefäße des Splanchnicusgebietes zusammenziehen, angenommen werden kann, die Vergrößerung des Widerstandes, die in diesem Gebiet entsteht, verursache Erhöhung des Blutdrucks; es muß jedoch sofort hinzugefügt werden, daß Zusammenziehung der Gefäße viel seltener beobachtet wird als Erweiterung und daß folglich in den Blutgefäßen des Splanchnicusgebietes durchaus nicht in allen Fällen Erhöhung des Widerstandes vorhanden ist.

Die Versuche an eviscerierten Tieren zeigen, daß das Adrenalin hier dieselbe Blutdrucksteigerung wie bei Tieren mit unversehrten Bauchorganen zeitigt. Eine bestimmte Dosis Adrenalin, die eine Erhöhung des Blutdrucks am ganzen Tier mit unversehrten Bauchorganen hervorruft, verursacht eine ebenso große Blutdruckerhöhung, auch nachdem das Tier eviscerierte worden ist. Keinerlei Unterschied kann in der Wirkung des Adrenalins auf den Blutdruck vor und nach der Eviscerierung bemerkt werden. Wenn das Splanchnicusgefäßgebiet der Hauptfaktor für die Regulierung des Blutdrucks wäre, so müßte die Wirkung des Adrenalins auf das Niveau des Blutdrucks bei eviscerierten Tieren schwächer ausgeprägt sein, als diejenige vor der Eviscerierung. Dies wird jedoch nicht in einem einzigen Falle beobachtet. Der Blutdruck eines Tieres steigt auf die entsprechende Höhe, gemäß der angewendeten Dosis Adrenalin, unabhängig davon, wie die Gefäße im Splanchnicusgebiet reagieren, ob mit Zusammenziehung oder mit Erweiterung, und unabhängig davon, ob die Bauchorgane unversehrt oder herausgeschnitten und herausgenommen sind.

Alles dies zeigt uns, daß das Splanchnicusgebiet nicht der Hauptfaktor sein kann, der die Veränderung im Niveau des Blutdrucks bedingt. Zu derselben Schlußfolgerung führen auch die Versuche von Orahovats und Gotsev (11) (12), sowie diejenigen von Gotsev, Lueken und Simmendinger (15), wo bei Einspritzung von Adrenalin in die Art. mesenterica sup. unter Vermeidung einer Herzwirkung keinerlei Veränderung im Blutdruckniveau erfolgte, trotz einer kräftigen Konstriktion der Gefäße des Dünndarms.

Bei zwei aufeinanderfolgenden Einspritzungen gleicher Dosen Adrenalin in die V. cava inferior und in den Anfangsteil der Aorta abdominalis erfolgt in beiden Fällen dieselbe Steigerung des Blutdrucks, unabhängig davon, daß im Zustande der Blutgefäße, der Bauchorgane und der hinteren Extremitäten zwei einander entgegengesetzte Veränderungen

eintreten, nämlich Erweiterung und Zuusammenziehung. Wenn der Zustand der Gefäße im Körper einer der Faktoren wäre, welche die Veränderung im Blutdruckniveau bedingen, so dürfte der Blutdruck beim Eintreten der Gefäßerweiterung nicht dieselbe Höhe erreichen, die er bei der Zusammenziehung der Gefäße erlangt. Aus Abb. 4 ist zu ersehen, daß der Blutdruck, trotz der Erweiterung der Gefäße der Extremität des Tieres, sogar einige Millimeter höher steigt als bei der Zusammenziehung derselben Gefäße.

Die Einspritzung des Adrenalins in verschiedene Stellen des Blutgefäßsystems, nämlich in die Venen, die Arterien und die Aorta, zeigen, daß die Latenzzeit, die vom Augenblick der Einspritzung des Adrenalins bis zum Beginn der Blutdrucksteigerung verstreicht, verschieden ist. Am kürzesten ist sie, wenn das Adrenalin in eine dem Herzen naheliegende Vene, länger, wenn es in eine entferntere Vene und noch länger, wenn es in eine Arterie eingespritzt wird. Je schneller das Adrenalin zum Herzen gelangt, desto eher erfolgt seine Wirkung auf den Blutdruck. Wenn man verhindert, daß das Adrenalin zum Herzen gelangt, so tritt keine Blutdruckerhöhung ein.

Dem bisher Dargelegten muß noch die Beziehung hinzugefügt werden, die zwischen den Veränderungen in der Herztätigkeit und denjenigen im Blutdruck festgestellt wird. Die Veränderungen, die in der Herztätigkeit eintreten, könnten als Folge einer Erhöhung des Widerstandes der Blutgefäße betrachtet werden. Eine solche erhöhte Tätigkeit, welche die Blutdrucksteigerung begleitet, wird aber sowohl bei Tieren, bei denen sich große Gefäßgebiete erweitern, festgestellt, wie auch bei eviscerierten Tieren und Tieren mit verkürztem Blutkreislauf, bei denen große Gefäßgebiete aus dem Gesamtblutkreislauf ausgeschlossen sind. Aus diesem Grunde muß angenommen werden, daß die in der Herztätigkeit eintretende Veränderung von dem direkten Einfluß des Adrenalins auf das Herz bedingt und nicht Folge des erhöhten Widerstandes im Blutgefäßsystem ist. Die Förderung der Herztätigkeit hat Erhöhung des Blutdrucks zur Folge. Alle diese Tatsachen sprechen dafür, daß das Herz der Hauptfaktor ist, der die Veränderung im Blutdruck nach der Anwendung von Adrenalin bewirkt. Die Blutgefäße haben einen unwesentlichen Anteil an dieser Veränderung.

Zusammenfassung.

1. Die Wirkung des Adrenalins auf die Blutgefäße hängt von der Stelle, wo die Einspritzung vorgenommen wird, ab. Die intravenöse Verabfolgung von Adrenalin verursacht in den meisten Fällen Erweiterung der Gefäße des Dünndarmes und der Extremitäten und in allen Fällen Zusammenziehung der Nierengefäße und Zusammenziehung der Milz.

Die intraarterielle oder intraaortale Anwendung von Adrenalin verursacht Zusammenziehung der Blutgefäße in denjenigen Organen,

zu denen Adrenalin direkt gelangt, und Erweiterung der Blutgefäße von denjenigen Organen, zu denen das Adrenalin gelangt, nachdem es durch das Herz hindurchgegangen ist.

2. Die Latenzzeit vom Anfang der Einspritzung des Adrenalins bis zum Anfang der Blutdrucksteigerung hängt von der Einspritzungsstelle ab: diese Zeit ist am kürzesten, wenn in eine dem Herzen nahegelegene Vene und am längsten, wenn in ein weit vom Herzen entferntes Blutgefäß eingespritzt wird. Je schneller das Adrenalin zum Herzen gelangt, desto kürzer ist diese Latenzzeit.

3. Bei eviscerierten Tieren und solchen mit verkürztem Blutkreislauf, bei denen große Gefäßgebiete vom großen Blutkreislauf ausgeschlossen sind, erzeugt das Adrenalin die in bezug auf Größe gleiche Veränderung des Blutdrucks, wie auch bei unversehrten Tieren.

4. Es wird nicht in allen Fällen eine Abhängigkeit der Veränderungen im Blutdruckniveau von denjenigen in dem Widerstano der Blutgefäße nach der Anwendung von Adrenalin festgestellt. Das Adrenalin verursacht größere oder geringere Blutdrucksteigerung, je nach der angewendeten Dosis. Das Ausmaß der Veränderung hängt nicht davon ab, ob in den Blutgefäßen Zusammenziehung oder Erweiterung eintritt, und ob große Gefäßgebiete ziirkulatorisch ausgeschaltet sind oder nicht.

5. Es besteht völlige Abhängigkeit des Blutdruckniveaus von den Veränderungen, die in der Herztätigkeit nach der Verabfolgung von Adrenalin eintreten. Die Zunahme der Herztätigkeit zieht Erhöhung des Blutdrucks nach sich, die darauf folgende allmähliche Abnahme der Herztätigkeit bis zu ihrer Normalisierung ist vom Absinken des Blutdrucks bis zu seinem Ausgangsniveau begleitet. Der Hauptfaktor, der den Blutdruck, nach Anwendung von Adrenalin verändert, ist das Herz. Die Rolle der Blutgefäße ist unbedeutend und wird gewöhnlich überschätzt.

Literatur.

1) Oliver u. Schäfer: J. Physiol. (Brit.) **10** (1895). — 2) Ogawa: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **67**, 89 (1912). — 3) Meyer, H. H., u. R. Gottlieb: Die experimentelle Pharmakologie, Urban-Schwarzenberg 1933, S. 403. — 4) Gollwitzer-Meier: Z. exper. Med. **69**, 367 (1930). — 5) Fleisch, A.: Schweiz. med. Wschr. **39** (1932). — 6) Maas: Pflügers Arch. **74**, 281 (1889). — 7) Anrep, G. V.: J. Physiol. (Brit.) **61**, 215 (1926). — 8) Rosenow: Dtsch. Arch. klin. Med. **127**, 135 (1918); **155**, 251 (1927). — 9) Danielopolu, D.: Presse méd. **59**, 649 (1923). — 10) Szakall: Dtsch. Arch. klin. Med. **153**, 206. — 11) Orahovats, D. P., u. T. Gotsev: Jb. Med. Fakultät, Sofia Bd. XII, 181 (1933). — 12) Orahovats, D. P., u. T. Gotsev: Pflügers Arch. **235**, 367 (1935). — 13) Gotsev, T.: Naunyn-Schmiedebergs Archiv **185**, 411 (1937). — 14) Orahovats, D. P.: Jb. Med. Fakultät, Sofia **10**, 207 (1930). — 15) Gotsev, T., B. Lueken u. W. Simmendinger: Z. exper. Med. **100**, 81 (1936).

Aus der Akademischen Kinderklinik Düsseldorf)
(Direktor: Prof. Goebel.)

Über den Einfluß des Diphtherietoxins auf das isolierte Kaltblüterherz.

Von

Sotirios Roufogalis und **Josef Ströder.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 12. Mai 1940.)

Im Rahmen einer Untersuchung über den Wert prophylaktischer Strophanthinbehandlung bei experimenteller Diphtherieintoxikation legten wir uns auch die Frage vor, ob das isolierte Kaltblüterherz durch das Diphtherietoxin geschädigt wird. Die bisher über diese Fragestellung vorliegenden Untersuchungen älterer Autoren kommen zu dem Ergebnis, daß auch das Kaltblüterherz durch Di-toxin beeinflußt werde.

Fennyvessy (1896) arbeitete mit der Kroneckerschen Herzkanüle. Das Herz wurde mit Ochsenblut, dem das Gift beigegeben wurde, durchströmt. Dabei fand der Untersucher, daß die geringste Toxinwirkung in einem Aussetzen und Schwächerwerden der Systolen besteht und daß als Folge stärkerer Vergiftungsgrade völlige Herzlähmung auftritt. Im selben Jahre beschäftigte sich Sharp mit der Frage. Er band in das Herz eine Kanüle ein und durchströmte mit einer in seiner Veröffentlichung nicht näher beschriebenen Apparatur. 15—30 Minuten nach der Vergiftung kam es zu einer Verlängerung der diastolischen Pausen. In nicht näher beschriebenen Durchströmungsversuchen Brodies (1899) trat ein Effekt erst nach 24 Stunden, und zwar im Sinne einer völligen Herzlähmung auf.

Wir nahmen unsere Versuche in den Monaten Juni und Juli 1939 vor und benutzten Temporarien, die wir zu jedem Versuch frisch dem Ranarium entnahmen. Das Herz wurde nach der von Führer angegebenen Methode präpariert und dann an einer von Prof. Girndt modifizierten Straubschen Kanüle befestigt. Die Durchströmung erfolgte nach einem Verfahren, welches Girndt ausgearbeitet hat. Der große Vorzug der Methode besteht darin, daß die notwendige Auswechslung des Kanüleninhaltes zur Prüfung anderer Konzentrationen oder Lösungen, durch fortlaufende Durchströmung geschehen kann. Druckschwankungen im Herzen werden dadurch völlig vermieden. Das Verfahren gestattet also ein Arbeiten unter solchen Verhältnissen, die den physiologischen kaum nachstehen dürften.

Die beigegebene Kurve zeigt das Mechanogramm eines Herzens, welches mit Giftlösung durchströmt wird. Durch mehrmaliges Anhalten der Schreibtrommel sind aus einer Zeit von 2 Stunden die Tätigkeits-

äußerungen in dieser Kurve festgehalten. Beim Vergleich mit der unmittelbar anschließend aufgenommenen unteren Kurve (ohne Unterbrechung, Zeitschreibung in Minuten) sieht man, daß ein nennenswerter Einfluß des Di-toxins auf irgendeine Herzqualität fehlt. Hiermit dürften die Ergebnisse der Voruntersucher widerlegt sein. Die Angabe Brodies ist schwer nachzuprüfen. Lediglich fortlaufend mit Ringerlösung durchspülte, sorgfältig präparierte Herzen, denen genügend Sauerstoff zugeleitet wurde, zeigten in unseren Versuchen nach 24 Stunden immer eine Abnahme der Hubhöhe und der Frequenz. Solche Veränderungen dann aber auf eine Giftwirkung zu beziehen, halten wir nicht für angängig.

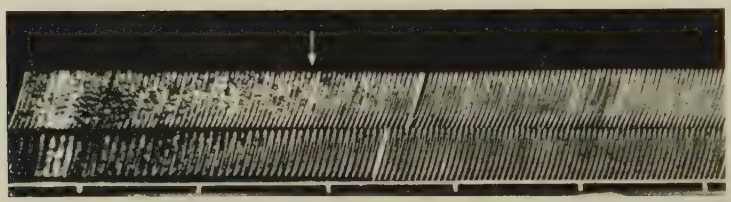


Abb. 1. 21. Juni 1939. Rana temp.
Obere Kurve: Toxin { (1 ccm : 200 Ringer) / (1. d. l. m. : 0,005)
Untere Kurve: ¥ Ringer.

Zusammenfassung.

Das Kaltblüterherz wird durch Diphtherietoxin nicht beeinflußt.

Literatur.

Fennyvessy: Jb. Kinderhk. **43** (1896); Sharp: J. Anat. a. Physiol. Vol. 31 (1896); Brodie: Brit. med. J. **11** (1899); Girndt: Veröffentlichungen der Reichsfilmstelle für den Unterrichtfilm zu dem Hochschulfilm Nr. C 300 (Lähmung des isolierten Froschherzens durch Äther); Ströder u. Roufogalis: Z. Kinderhk. **61**, H. 4.

Aus dem Chemischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover.
(Direktor: Prof. Dr. P. W. Danckwortt.)

Beitrag zur Problematik der Blei-Porphyrinurie.

(Untersuchungen am Harn von Pflanzenfressern.)

Von

W. Gabel.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 26. März 1940.)

Chronische Bleivergiftung ist eine häufige Krankheitsursache bei Nutztieren. Das Blei gerät in den tierischen Körper (1, 2) durch bleihaltige Abgase und Staub, die von Hütten und ähnlichen Betrieben in die Luft gejagt und beim Weidegang eingeatmet werden oder sich auf Rauhfutter und in Tränkwasser niederschlagen, durch bleihaltige Erde, die das Futter verschmutzt (3), durch Tränkwasser, das Blei aus Rohrleitungen aufnimmt, und mitunter wohl auch durch Wasser, das mit bleihaltigen Mineralien in Berührung gekommen ist (3a). Die Diagnose einer chronischen Vergiftung, die mit jeweils nur geringen Bleimengen über längere Zeiträume wirkte, ist beim Tier noch schwieriger als beim Menschen. Das von Danckwortt und Mitarbeitern (4, 5) ausgearbeitete Verfahren zur jodometrischen Mikrobestimmung von gespeichertem Blei in der Leber kann die Diagnose nachträglich bestärken und grobwirksame Vergiftungsquellen aufdecken. Es fehlt aber noch an einem zuverlässigen und einfachen Verfahren, die Diagnose am lebenden Tier eindeutig zu sichern und so eine rechtzeitige Therapie möglich zu machen. Für Mikrobleibestimmungen im Blut stehen ohne Schädigung des Tieres nur geringe Blutmengen zur Verfügung und die Bestimmung der basophil getüpfelten Erythrocyten ist mit allerlei Schwierigkeiten und Unsicherheiten behaftet.

In der Humanmedizin hat in den letzten Jahren die Bestimmung des Koproporphyrins III, das bei Bleivergiftung im Harn vermehrt ausgeschieden wird, größeren diagnostischen Wert bekommen (6, 7, 24, 25 u. a. m.). Die hier berichtete Arbeit sollte die Frage klären, ob die Porphyrinvermehrung im Harn sich auch bei Nutztieren zur Diagnose chronischer Bleivergiftung verwerten läßt (5a). [Über die gesamten Porphyrinprobleme vgl. unter anderem die Monographien von Vanotti (6) und Carrié (7), daselbst ausführliche Schrifttumshinweise.]

Der Bleigehalt im Futter.

Bei den älteren Arbeiten, die die Ausscheidung ätherlöslicher Porphyrine bei Bleivergiftung wenigstens qualitativ erwiesen (8, 9, 4, 10, 11), sind grob akut wirksame Bleimengen verabreicht worden, oft unter Be-

dingungen, die der normalen Aufnahme durch die Luftwege und den Verdauungstrakt nicht entsprechen. Deshalb mußten in unseren Tierversuchen andere Wege gesucht werden, um wenigstens für die Bleiaufnahme durch die Nahrung den Verhältnissen nahezukommen, die in der praktischen Tierhaltung vorliegen. Über die Fütterungsversuche wird bei den einzelnen Tierarten berichtet.

Unter natürlichen Bedingungen liegt das Blei übrigens oft in „unverdaulicher" Form vor. In einer Heuprobe, die bleihaltigen Flugstaub enthielt, wurde von uns ein Gehalt von 36,6 mg Blei (als Bleimetall berechnet) in 100 g (0,37 g im kg) Heu ermittelt. [Das Heu wurde gemäß dem Verfahren von Danckwortt und Höll (5) mit rauchender Salpetersäure mineralisiert und das Blei über Sulfid und Chromat schließlich jodometrisch bestimmt.] Im Verdauungsversuch nach Steudel (12) erwiesen sich von dem Gesamtbleigehalt rund 4,8 mg = rund 15% mit Pepsin/Salzsäure, rund 3,3 mg = rund 10% mit Diastase/Natriumbicarbonat, zusammen rund 8 mg = rund 25% als verdaulich, rund 24 mg = rund 75% als unverdaulich. In den Verdauungssäften und im unverdauten Rest wurde das Blei nach dem beschriebenen jodometrischen Verfahren bestimmt. Danach würde, soweit das Blei durch den Verdauungstrakt aufgenommen wird, ein Pferd mit durchschnittlich 500 kg Gewicht und durchschnittlich 4 kg Heuration täglich rund 1,2 g Blei, davon rund 0,3 g verdaulich, oder 0,6 mg je kg Körpergewicht, und ein Rind mit durchschnittlich 500 kg Gewicht und durchschnittlich 12 kg Heuration täglich rund 3,6 g Blei, davon rund 0,9 g verdaulich, oder 1,8 mg je kg Körpergewicht bekommen. [Von dem so angebotenen „verdaulichen" Blei wird nur ein Teil tatsächlich aufgenommen, der Rest mit den Abgängen wieder ausgeschieden (32).] Das sind verhältnismäßig viel geringere Mengen, als sie in den genannten älteren Arbeiten den kleineren Versuchstieren einverleibt wurden; bei den praktischen Bedingungen der tierischen Bleivergiftung sind ja auch die allgemeinen Symptome meist viel schwächer. Bei den sehr verwickelten Einflüssen, die im Körper auch auf „unlösliche" oder „schwerlösliche" Bleiverbindungen einwirken können (32), gibt ein solcher „Verdauungsversuch" natürlich nur eine grobe Übersicht über die Anteile an leichter und schwerer resorbierbaren Bleiverbindungen.

In ein und demselben Futtervorrat ist der bleihaltige Flugstaub übrigens sehr ungleichmäßig verteilt, so daß es kaum möglich ist, gute Durchschnittsproben und in Paralleluntersuchungen übereinstimmende Werte zu bekommen. (Daher erklärt sich auch im hier berichteten Versuch die Differenz von 36,6 mg Blei im unmittelbaren Heuaufschluß gegen die Summe von 32 mg in den Aufschlüssen des Verdauungsversuchs.) - Eine andere von uns untersuchte Heulieferung enthielt 1 g Blei im kg.

Technik der Porphyringewinnung und -messung.

In der Humanmedizin kann man ohne Mühe die gesamte Urinausausscheidung des Tages ohne Verlust gewinnen und somit auch die normale wie die pathologische Porphyrinausscheidung im Harn auf den 24-Stundentag beziehen, unabhängig von möglichen tageszeitlich bedingten Stoffwechselrhythmen. In der Veterinärpraxis ist das, wenigstens bei Großtieren, nicht möglich. Nicht einmal in gut eingerichteten Tierkliniken kann man die Gesamttagesharnmenge von Großtieren zuverlässig sammeln, wenn man nicht umständliche bauliche Vorkehrungen treffen kann. In der ambulanten Praxis muß sich der Tierarzt mit der gelegentlich ent-

nommenen Harnprobe begnügen, die er dem eingerichteten Spezialinstitut zur Untersuchung übersendet. Für die Zwecke unserer Fragestellung mußte sich darum die Berechnung des normalen wie des pathologischen Porphyrinbefundes auf praktisch gewinnbare Harnmengen beziehen, und wir wählten dazu den Gewichtsgehalt γ Porphyrin in je 100 ccm Harn („γ%“). (Die Abweichungen des spezifischen Gewichts des Harns von 1 sind so geringfügig, daß man sich ohne merkbaren Fehler mit dem bequemeren Abmessen des Harns begnügen kann, anstatt ihn abzuwägen.)

Dabei ist der Porphyrinwert freilich behaftet mit der Unsicherheit der ungleichmäßigen 24-Stunden-Harnmenge, die je nach Fütterung und Gesundheitszustand merklich schwanken kann. Die weiter unten angeführten Kaninchenversuche zeigten, daß mindestens bei diesen Tieren die Porphyrin-Tagesausscheidung sich an die Gesamt-Tagesharnmenge etwas angleicht, die Porphyrinkonzentration im Harn also verhältnismäßig konstant bleiben will; es besteht also in der Tat die Gefahr, daß gelinde Erhöhungen der Porphyrinausscheidung übersehen werden, wenn man ohne Kenntnis der gesamten, binnen 24 Stunden abgesetzten Harnmenge nur Gelegenheitsproben untersuchen und auf den γ%-Durchschnittswert berechnen kann.

Eine weiter denkbare Fehlerquelle ist die 24-Stunden-Rhythmik des Stoffwechsels, besonders der Leber (12a); wir haben jedoch Harne von verschiedenen Tageszeiten untersucht und bis jetzt keinen Anhalt dafür gefunden, daß die Stärke der Porphyrinausscheidung merkbar tageszeitlich bedingt ist.

Von den gebräuchlichen Verfahren zur Bestimmung des Porphyringehalts bot das von Fikentscher (13) beschriebene der Fluoreszenzmessung des salzsauren Endauszugs im Pulfrichschen Photometer sich schon deshalb an, weil seine Technik einfach ist und weil es noch recht geringe Mengen quantitativ erfassen läßt. Für den Eingearbeiteten ist die Gewinnung des Porphyrinauszugs einfach, die Messung im Pulfrich-Photometer bequem und schnell, die Genauigkeit mit etwa $\pm$ 5% für angemessene Anforderungen vollauf genügend. (Für die Beurteilung der Genauigkeit ist zu beachten, daß tierische Harne der Bearbeitung zum Teil bedeutend größere technische Schwierigkeiten entgegenstellen als Menschenharn.) Die Genauigkeit des Verfahrens ist in zahlreichen Vergleichsversuchen unter wechselnden Bedingungen geprüft worden, und es ergab sich dabei kein Anhalt, daß die von verschiedenen Seiten [vgl. Fink und Hoerburger (14), Tropp und Hofmann (15)] gegen das Verfahren vorgetragenen Bedenken praktisch stichhaltig wären. Die hernach beschriebenen ungelösten Schwierigkeiten hatten andere Ursachen und hätten sich auch mit einem der anderen Verfahren nicht beheben lassen.

Entsprechend dem allgemeinen Brauch der klinischen Praxis, der sich auf zahlreiche Nachweisarbeiten stützt, gingen wir von der Voraus-

setzung aus, daß unter den gewählten Versuchsbedingungen die Fluoreszenz des über die Essigsäure-Ätherausschüttelung erhaltenen salzsauren Auszugs im wesentlichen auf Koproporphyrin III beruhe. Eine spektrographische oder andere Identifizierung der vorliegenden Porphyrine mußte aus technischen Gründen bislang unterbleiben. Für die praktische Diagnose genügt es zu ermitteln, ob die Gesamtmenge ätherlöslicher Porphyrine im Harn gegenüber dem „Normalwert" vermehrt ist.

Die gemessene Harnmenge (möglichst nicht unter 200 ccm) wurde nach Bestimmung der Alkalität und des spez. Gewichts mit $^1/_{10}$ ihres Volumens Eisessig versetzt, mit 5 · 50 ccm (bei wenig Harn entsprechend weniger) peroxydfreiem Äther * ausgeschüttelt, die vereinigten Ätherauszüge mit kleinen Mengen Wasser (etwa 1 Liter im ganzen) gewaschen, bis das Waschwasser gegen Lakmuspapier neutral reagierte, mit Äther in einen kleinen Scheidetrichter gespült (dessen Bauch, zum besseren Erkennen der Schichtgrenze, durch ein 2 cm langes Stück Biegerohr mit dem Hahnsitz verbunden war) und drei- bis viermal mit je etwa 1,5 ccm 5%iger Salzsäure ausgeschüttelt, bis die salzsaure Schicht unter dem filtrierten UV-Licht der Analysenquarzlampe keine Rotfluoreszenz mehr zeigte. Die salzsauren Auszüge wurden in einem 10 ccm-Meßzylinder gesammelt, 10 Minuten lang durch Erwärmen (mit Siedekapillare) im Wasserbad bei 40—55° entäthert und nach dem Erkalten das Volumen gemessen.

Mucinreiche Harne (besonders also Pferdeharne) bilden mit Äther häufig eine ziemlich beständige Emulsion. Perkolieren des Harns mit Äther, Aufkochen des Harns oder Zusatz von Terpenen zur Änderung der Oberflächenspannung half nicht. Die Schwierigkeit ließ sich umgehen, indem die Emulsion dreimal mit je etwa 50 ccm Wasser (zur Entfernung der Hauptmenge des innehaftenden Harns) gewaschen, dann mit fünfmal 20 ccm 5%iger Salzsäure ausgeschüttelt, dieser salzsaure Auszug mit Natriumacetat gegen Kongopapier essigsauer gemacht, mit nochmals 10 ccm Eisessig versetzt und wiederum wie ein Harn ausgeäthert wurde. Der so gewonnene „Zwischenauszug" emulgierte nur noch wenig; er wurde mit Wasser neutral gewaschen und wie beschrieben mit 5%iger Salzsäure ausgezogen. Fast ebenso schnell und mit geringerer Verlustgefahr konnten wir die ursprüngliche Emulsion ohne Zwischenauszug beseitigen, wenn von Zeit zu Zeit die darunter sich sammelnde wässerige Schicht abgelassen und die Emulsion mit neu hinzugefügtem Äther durchgeschüttelt wurde.

Der Auszug mußte mit 5%iger Salzsäure so weit verdünnt werden, daß er jedenfalls schwächer fluoreszierte als eine gleichdicke Schicht einer Lösung von etwa 140 γ Porphyrin in 100 ccm 5%iger Salzsäure, mit der er unter der Analysenlampe verglichen wurde, weil darüber hinaus die Fluoreszenzstärke nicht mehr linear der Konzentration folgt. Bei sehr starken Auszügen wurde nur ein gemessener Teil hinreichend gemessen verdünnt und der Berechnung des Porphyringehalts nachher die entsprechende theoretische Verdünnung des gesamten Auszugs zugrunde gelegt.

Die Rotfluoreszenz dieses salzsauren Auszugs im filtrierten UV-Licht der zentrierten Hanauer Analysenquarzlampe wurde in der 10-mm-Küvette im Pulfrich-Photometer gemessen (beiderseits mit 5 mm 15%iger Kupfersulfatlösung und Euphosgläsern als Schutzfilter), mit Rotfilter L_3 und gegen einen Zeißschen „Fluoreszenzstandard Rot", dessen Fluoreszenzstärke zufällig und günstig genau

* Bei der Gelegenheit sei dringend darum gebeten, daß der täuschende und falsche Ausdruck „Essig/Äther" oder gar „Essigäther" aus dem Schrifttum grundsätzlich verbannt wird, daß für Äthylacetat allenfalls der Gebrauchsname „Essigester" verwendet und essigsäurehaltiger (Diäthyl-)Äther nicht hinter einer nur scheinbar bequemen, irreführenden Kurzbezeichnung versteckt wird.

der einer 10 mm dicken Schicht einer Lösung von 100 γ Koproporphyrin III in 100 ccm HCl entsprach (dies günstige Verhältnis ersparte umständliche Umrechnungen)*.

Fluoreszierte der Auszug stärker als die Standardscheibe, so wurde nicht der „Kehrwert" genommen, sondern die Blende hinter dem Auszug auf 50 eingedreht, der an der Standardskala abgelesene Skalenwert sodann verdoppelt. Dieses vereinfachte Verfahren lieferte innerhalb der Fehlergrenze vollauf ausreichend genaue Werte. Es muß nur bedacht werden, daß durch Aufblenden der zuvor verdunkelten Standardfluoreszenz an die Lichtgleichheit herangegangen wird und nicht umgekehrt, weil sonst das Auge durch die helle Standardfluoreszenz geblendet wird, und daß der Skalenablesewert an der Standardblende — nötigenfalls eben durch Einengen der Auszugblende — zwischen etwa 30 und 80 bleibt, weil darunter die Messung unsicher wird und darüber gewisse Farbunterschiede stören. (Der neue von Zeiss geschaffene „Fluoreszenzstandard Gelbrot für Porphyrinmessungen" stand für diese Arbeit noch nicht zur Verfügung.)

Zum Einfüllen neuer Auszüge konnte der Arbeitsplatz zeitweilig mit der gelben („Natrium"-) Dunkelkammerlampe beleuchtet werden, ohne daß das Auge dadurch geblendet wurde. Dagegen ist das adaptierte Auge sehr empfindlich gegen die geringsten Spuren auch filtrierten Hg-Lichts. Die Analysenlampe muß daher sorgfältig verdunkelt werden bis auf die beiden abgeschirmten Lichtaustritte, die unmittelbar in das Photometer münden. Die Skalen und die Meßaufzeichnungen dürfen nur rot beleuchtet werden.

Es genügt, wenn als Meßwert für jeden Auszug der Mittelwert genommen wird aus 10 aufeinanderfolgenden Einzelmessungen, deren höchste und niedrigste um nicht mehr als 10 Skalenstriche auseinanderliegen. Mit zunehmender Erfahrung geht das Messen schneller und genauer vor sich, so daß man auch mit weniger Einzelmessungen auskommt und in 1 Stunde gegen 20 Auszüge messen kann.

Zur Berechnung dienten, dank dem günstigen Standardverhältnis, die einfachen Formeln:

$$\frac{\text{gemessener Skalenwert} \times \text{Menge salzsauren Auszugs}}{\text{Harnmenge}} = \gamma \text{ ätherlösliches Porphyrin in 100 ccm Harn (= „}\gamma\%\text{")}$$

(und:

$$\frac{\text{gemessener Skalenwert} \times \text{Menge salzsauren Auszugs}}{100} = \gamma \text{ ätherlösliches Porphyrin Tagesausscheidung, wenn bei kleinen Versuchstieren die gesamte 24-Stunden-Harnmenge verarbeitet werden konnte).}$$

Als Beispiel für die Ermittlung und Güte der Genauigkeit des Verfahrens diene eine Vergleichsversuchsreihe mit verschiedenen Mengen von ein und demselben Pferdeharn, der durch Mucinemulsion besondere Schwierigkeiten bot.

Bei zahlreichen Vergleichsansätzen mit wechselnden Mengen Harn, Äther und Waschwasser ließ sich kein Anhalt dafür gewinnen, daß die Einwände stichhaltig wären, die Tropp und Hofmann (15) gegen die Genauigkeit des Verfahrens, besonders gegen den Einfluß des Auswaschens, erhoben haben. Sogar die Zwischenauszüge brachten bei sorgfältiger Arbeit praktisch keine wesentlichen Verluste.

* Für Beratung bei der Eichung des Standards ist Herrn Doz. Dr. habil. R. Fikentscher zu danken.

Harnmenge ccm	Auszugsmenge ccm	Meßwert (Mittelwert aus je 10 Ablesungen)	Errechnet γ%	Abweichung gegen den Mittelwert %
200	20*	45,2 × 2**	$9{,}0_4$	− 0,3
100	20	44,2	$8{,}8_4$	− 2,0
100	20	47,6	$9{,}5_3$	+ 5,0
25	5	44,3	$8{,}8_6$	− 1,2
14	5	25,5	$9{,}1_1$	+ 0,4
		Mittelwert 9,07		

* Wegen Emulsionsbildung über Zwischenauszug gewonnen. — ** Weil gegen Auszugblende = 50 gemessen.

Versuche an Pferden.

Nach dem beschriebenen Verfahren wurde die normale Ausscheidung ätherlöslicher Porphyrine im Harn bei einem größeren gesunden Pferdebestand von Ostpreußen und Hannoveranern ermittelt und ein Durchschnittswert von 6,3 γ% gefunden. Die Werte streuten hauptsächlich zwischen 2,5 und 7,5 γ%; ganz vereinzelt fanden sich auch höhere Werte von 8—14 γ%. — (Bei einer normal durchschnittlichen täglichen Harnausscheidung von 4—5 Liter würde ein Pferd also täglich etwa 0,3 mg ätherlösliches Porphyrin liefern.) —

Zwischen Wallachen und Stuten war kein wesentlicher Unterschied in der Porphyrinausscheidung zu erkennen; es ist möglich, daß mit zunehmendem Alter — die Versuchstiere standen im Alter von 4 bis 20 Jahren — die Porphyrinausscheidung etwas geringer wird. Zwischen dem Porphyringehalt einerseits und der augenfälligen Harnfarbe, der Alkalität und dem spezifischen Gewicht andererseits ließ sich keine Beziehung finden. (Das gleiche gilt für die später untersuchten Harne anderer Tierarten.) Bisweilen fluoreszierte der salzsaure Endauszug für das unbewaffnete Auge violett bis blau statt rot [vielleicht von Indikan und ähnlichen Stoffen, wie auch Fikentscher und Franke (16) angeben]; hinter dem Filter L_3 ließ sich die rote Porphyrinfluoreszenz trotzdem einwandfrei messen. (Nur in einigen seltenen Fällen lagen Harne vor, die auch im wiederholten Ansatz keinerlei Rotfluoreszenz des salzsauren Endauszuges ergaben.)

Der Porphyringehalt des Pferdeharns blieb ziemlich beständig auch bei längerer Aufbewahrung im Dunkeln. Der Harn ließ sich auch ohne Schaden mit Thymol konservieren; Zusatz von (peroxydfreiem) Äther dagegen schädigte den Porphyringehalt.

Ein empfindliches ostpreußisches Reitpferd, das 2 Tage am frischen bleihaltigen Anstrich des Laufstandes geknabbert hatte und deutliche Symptome leichter akuter Bleivergiftung zeigte, hatte im Harn einen Porphyringehalt von 12,2 γ%. Das lag deutlich über dem Durchschnittswert von 6,3 γ% (obschon man daran denken muß, daß auch bei der Ermittlung des normalen Durchschnittswertes ganz vereinzelt Werte bis 14 γ% streuten). Nach 5 Wochen, als das Tier längst genesen war, betrug der Harn-Porphyringehalt noch 9,5 γ%.

Zwei mittelschwere Hannoveraner Pferde in ruhiger Stallhaltung* bekamen 6 Monate lang täglich (als Beifütterung zu Hafer) je 4 kg des obenerwähnten bleihaltigen Heus, das in 1 kg 0,32 g Blei, davon 0,08 g „verdaulich" enthielt. Die Tiere bekamen mithin an Blei täglich rund 1,3 g, davon 0,32 g leicht aufnehmbar oder in 6 Monaten insgesamt rund 240 g, davon 60 g leicht aufnehmbar. Die Werte der Porphyrinausscheidung im Harn, die vorher den Normalwerten von 6,3 γ% entsprochen hatten, schwankten bei beiden Pferden in den ersten Versuchswochen stark zwischen normalen und gegen 9 und 11 γ% erhöhten Werten, hielten sich dann aber zeitweise wieder etwas konstant über dem Normalwert. Pferd P. hatte nach 3 Wochen Kolikanfälle und Fieber ohne übermäßig hohe Porphyrinwerte, nach 8 Wochen zunehmende Verschlechterung des Allgemeinbefindens, Haaraufrauhung, Lidbindehautentzündung, Steifigkeit im Schritt, Appetitmangel, mit gelegentlicher Erhöhung der Porphyrinausscheidung auf 17 γ%, dazwischen aber wieder Porphyrinwerte, die nur wenig über dem Normalwert lagen und, wenn sie so als Ergebnis der gelegentlich eingelaufenen Untersuchung eines unbekannten ambulanten Falles gemessen worden wären, für sich allein keinerlei Verdacht auf Vorliegen einer Bleivergiftung gerechtfertigt hätten. Am Schluß des Versuchs hatte das Pferd P. unvermittelt den hohen Porphyrinwert von 18,6 γ% und bei der Schlachtung den hohen Bleigehalt von 9,8 mg Pb in 100 g Leber.

Das Pferd H. hatte nie merkbare Kolik oder Fieber und erst nach $3^1/_2$ Monaten Kehlkopfpfeifen nach Zugarbeit. Seine Porphyrinwerte pendelten zwischen 10 γ% und 6 γ%. Nach 6 Monaten ging es (ohne Zusammenhang mit dem Bleiheu-Fütterungsversuch) an eitriger Pneumonie ein; es hatte da neben fast normalem Porphyrinwert im Harn einen Bleigehalt von 5 mg Pb in 100 g Leber (also weniger als das sichtlich stärker geschädigte Pferd P.).

Die beiden Bleiwerte liegen weit über dem „kritischen" Wert von 0,2 mg Pb in 100 g Leber, oberhalb dessen nach den grundlegenden Untersuchungen zu Danckwortts Mikro-Bleibestimmungsverfahren (5) Verdacht auf stattgehabte tödliche Bleivergiftung angenommen wird. Trotzdem hatten die Tiere bei ruhiger gleichmäßiger Stallhaltung einen so hohen Bleispeicher in der Leber gut ertragen. Über die Bedeutung dieses Befundes soll in anderem Zusammenhang besonders berichtet werden (17). Jedenfalls aber waren die Werte der Porphyrinausscheidung im Harn viel zu unregelmäßig und zu undeutlich, als daß sie zu einer Diagnose am lebenden Tier hätten herangezogen werden können.

Die gleiche enttäuschende Erfahrung bestätigte sich bei der Untersuchung zahlreicher Harne zweifellos bleivergifteter Tiere, die aus der

* Für Unterstützung bei den Versuchsfütterungen am Pferd und Rind ist den Herren Prof. Dr. Oppermann, Direktor der Medizinischen Klinik, und Prof. Dr. Mießner, vorm. Direktor des Hygienischen Instituts der Tierärztlichen Hochschule Hannover, zu danken.

ambulanten Praxis eingeschickt wurden. Niemals fand sich hierunter ein Harn, dessen Porphyringehalt verdächtig die oberen Grenzwerte normaler Harne überschritten hätte. Es mußte somit die Hoffnung aufgegeben werden, daß das Porphyrinsymptom beim Pferde deutlich genug wäre, um zur Lebenddiagnose der Bleivergiftung zu dienen.

Auch der weiter unten berichtete Versuch schlug fehl, den Bleispeicher der Leber mit KJ zu entbinden und durch die Überschwemmung des Körpers mit Blei eine Steigerung der Porphyrinausscheidung zu erzwingen.

Versuche an Rindern.

Die Untersuchung der Porphyrinausscheidung im Rinderharn brachte Schwierigkeiten schon bei der Ermittlung des Normalwertes mit sich. Es wurde ein Bestand von gut gehaltenen Rassetieren, schwarzweißen Lüneburgern, Ostfriesen, Breidenburgern, Stadern und roten Anglern untersucht. Die normale Ausscheidung ergab sich rechnerisch zu durchschnittlich 1,6—2 γ% und streute zwischen den Grenzwerten 1 und 4 γ%. (Für die Umschätzung aus „γ%“ in „γ Tagesausscheidung“ ist zu beachten, daß das Rind täglich durchschnittlich 6—12 Liter, also anderthalb bis zweimal soviel Harn absetzt wie das Pferd.)

Aber der Porphyringehalt des Rinderharns war weniger beständig beim Aufbewahren als der des Pferdeharns. Nach ein, zwei und mehr Tagen schwankten die Werte aus Auszügen von aufbewahrten Resten ein und desselben Harns um 10—30% gegen den zuerst gemessenen Wert, und zwar bisweilen nach unten, bisweilen an den folgenden Tagen ohne ersichtlichen Grund wieder nach oben ausweichend. Die Werte streuten ganz willkürlich bald nach oben, bald nach unten, ohne daß sich irgendein Grund oder Richtungssinn der Änderungen oder eine Abhängigkeit von der Art und Dauer des Aufbewahrens aufdecken ließ. Absolut genommen ist eine Abweichung von 2,0 γ% auf 2,6 oder 1,4 γ% gering, relativ aber übersteigt ein solcher Unterschied von $\pm$ 30% weit das, was man einem Bestimmungsverfahren auch von empfindlichem organischem Material zubilligen darf, zumal ja die Erfahrung am Pferdeharn gelehrt hat, daß die Porphyrinbestimmung im Harn sich durchaus mit einer Genauigkeit von $\pm$ 5% erreichen läßt.

Es konnte vermutet werden, daß hier „Porphyrinogen“ vorläge. Deshalb wurden verschiedene Oxydationsmittel herangezogen, die zunächst an Pferdeharn auf Unschädlichkeit gegen ätherlösliche Porphyrine geprüft wurden. — R. Opsal (18) hat zu dem Zwecke vorgeschlagen, den Harn mit 1 Tropfen Jodtinktur auf je 5 ccm Harn zu versetzen, um „Porphyrinogen“ zu oxydieren. Wir fanden jedoch, daß die Rotfluoreszenz des salzsauren Endauszuges aus 200 ccm Harn, die mit 2 ccm 7%iger Jodtinktur (= 40 Tropfen = 0,14 g) geschüttelt waren, bis auf $^2/_3$ der Fluoreszenzstärke zurückging, die ein Auszug aus dem gleichen unbehandelten Harn aufwies. Fink und Hoerburger (14) haben gegen das Fikentschersche Verfahren u. a. eingewandt, die Salzsäure könnte auf das Porphyrin chlorierend wirken und durch Bildung des Tetrachlorporphyrins die Fluoreszenzmessung vereiteln.

Peroxydfreien Äther selbstverständlich vorausgesetzt, kann dem Chlorion keine solche oxydierende Wirkung zugeschrieben werden. Wohl aber ist es denkbar, daß elementares Halogen, hier also elementares Jod, auf labile Stoffe halogenierend oder sonstwie mittelbar oxydierend wirken und unter Bildung anders oder nicht fluoreszierender Porphyrinderivate die Messung fälschen kann. — Schädlich wirkten im Versuch auch Eisen-3-Chlorid und Kaliumpermanganat. Dagegen wird Wasserstoffsuperoxyd vom Pferdeharn sogar noch in stundenlanger Einwirkung und in Mengen von 0,7 ccm 30%iger Lösung = 0,2 g H_2O_2 auf 100 ccm Harn ohne jeden Schaden für den endlichen Porphyrinmeßwert vertragen.

Aber auch mit Wasserstoffsuperoxydzusatz ließen sich die Rinderharne nicht dahinbringen, daß die von Tag zu Tag folgenden Nachuntersuchungen schließlich gleichbleibende Porphyrinwerte oder wenigstens Änderungen der Werte in einem eindeutig gerichteten Sinne zeigten. Kurze oder lange Dauer der Aufbewahrung bis zur Ausschüttelung, Abstellen im Dunkeln oder im Tageslicht, Ruhigstellen oder Durchschütteln mit Luft vor dem Ausäthern, Vermehrung oder Verminderung der Waschwassermengen [im Hinblick auf die Einwände von Tropp und Hofmann (15)], alles das hatte keinen Erfolg; auch die Sedimentation war nachweislich nicht die Ursache der Störungen. Solange diese noch ungeklärte Schwierigkeit bei Rinderharn nicht behoben ist, besteht keine ausreichende Einsicht in die normale Ausscheidung von ätherlöslichen Porphyrinen im Rinderharn.

Eine Kuh von 600 kg Gewicht bekam 7 Monate lang täglich 3,6 g (0,6 g je 100 kg) Bleioxyd (in aufgeschnittenen Rübenscheiben eingestreut), = 3,2 g Blei täglich oder rund 670 g Blei im ganzen. Das ist etwa das Dreifache der Menge, die die obenerwähnten Versuchspferde bekamen, oder wenn man die normale Heuration des Rindes von etwa 12 kg mit der Heuration von 4 kg für das Pferd vergleicht, etwa die Bleimenge, (ohne Unterscheidung der „Verdaulichkeit"), die die Kuh aufgenommen hätte, wenn sie mit jenem bleihaltigen Heu gefüttert worden wäre. Nach 6 Wochen hatte die Kuh morgens leichte Temperaturerhöhung; im übrigen war nichts Wesentliches an ihr zu bemerken. Die „Porphyrinwerte" schwankten zwischen 2 und 6 γ% und stiegen nie höher. (Da das Tier schließlich für andere Zwecke wieder abgegeben werden mußte, konnte die Leber leider nicht auf Bleigehalt untersucht werden.) Nach Fröhner (33) kann zwar angenommen werden, daß im allgemeinen das Rind empfindlicher auf Bleivergiftung anspricht als das Pferd (wenigstens wenn es sich um größere Bleimengen handelt); indessen ist auch bekannt [vgl. die Literatur bei Flury (32)], daß selbst innerhalb ein und derselben Tierart starke individuelle Unterschiede auftreten können.

Soweit man aus diesem einen Tierversuch und aus der ebenfalls negativ verlaufenen Untersuchung der Harne mehrerer bleikranker ambulant behandelter Rinder schon Schlüsse ziehen darf, zeigt es sich jedenfalls, daß unter den Bedingungen der normalen Tierhaltung die Bleivergiftung durch Futter, wie immer auch der „Normalwert" der Porphyrinausscheidung im Rinderharn sein mag, jedenfalls auch beim Rinde keine bemerkbare und auswertbare Steigerung der Porphyrinausscheidung erzeugt, (wenigstens nicht bemerkbar, wenn man nicht die gesamte Tagesausscheidung von Harn quantitativ sammeln kann).

Versuche an Kaninchen.

Nach diesen Ergebnissen sollte an bequemer zugänglichen Versuchstieren die Bleischwelle ermittelt werden, die das Porphyrinsymptom noch eben zu erzeugen vermag. Wir wählten dazu Kaninchen, und zwar nach dem Vorschlag von v. Drigalski (19) weibliche weiße Wiener, (und wir konnten in der Tat bestätigen, daß unter dem Einfluß starker experimenteller Bleivergiftung ein männliches Tier derselben Rasse nur mäßige und unsichere, ein weibliches „hasenfarbenes" Tier größere, aber sehr unstet schwankende Porphyrinvermehrung im Harn zeigte).

Die Tiere waren gleichalt, und ziemlich übereinstimmend etwa 2 kg schwer; sie wurden regelmäßig täglich mit 80—100 g Heu und einer halben Rübe gefüttert [übrigens erzeugte chlorophyllreiches Grünfutter keine merkliche Änderung im Gehalt des Harns an ätherlöslichen Porphyrinen, wie das auch schon Brugsch (20) angegeben hat; vgl. auch (21)]. Trotz der ganz gleichmäßigen Haltung der Tiere schwankten die täglichen Harnmengen ohne ersichtliche Gründe unstet zwischen 80 und 300 ccm. Die tägliche Gesamtausscheidung von ätherlöslichen Porphyrinen im Harn war individuell verschieden und lag im allgemeinen zwischen den Werten von 2 und 8 γ, im Durchschnitt bei 3,7 bis 6,4 γ. Es ergab sich aber, daß einer höheren Porphyrinausscheidung auch eine höhere Harnausscheidung zu entsprechen pflegte, so daß die „γ%-Werte" (γ Porphyrin in 100 ccm Harn) stetiger waren und sich durchschnittlich bei 2,4 bis 3,7 γ% hielten. Aus ganz ähnlichen Beobachtungen haben P. Poulikakos und C. Tropp (21) geschlossen, daß die Niere eine gewisse Konzentrationsfähigkeit für Porphyrin besitzt. Unsere Befunde machen es demgegenüber andeutungsweise wahrscheinlich, daß eher umgekehrt nach einer höheren Porphyrinausscheidung eine höhere Harnausscheidung angeregt wird. Für ein sicheres Urteil liegen noch zu wenig Beobachtungen vor, doch sollen unsere Ergebnisse in drei Kurvenbeispielen zur Erörterung gestellt werden (s. Abb. 1 S. 375).

Offenbar hat der Körper das Bestreben, die Porphyrinkonzentration im Harn stetig zu halten, (wenigstens solange nicht andere gröbere Reize, wie stärkere Bleivergiftung, die Niere und die Harnerzeugung an und für sich stören). Kann man die Harnausscheidung von 24 Stunden quantitativ sammeln, wie in der Humanmedizin und im überwachten Tierversuch, so hat das nichts weiter auf sich. Muß man sich aber mit Rücksicht auf die Arbeitsbedingungen der ambulanten Veterinärpraxis mit gelegentlich entnommenen Harnproben begnügen und auf einen Durchschnittsgehalt in 100 ccm Harn auswerten, ohne Kenntnis der tatsächlich am Untersuchungstage abgesetzten Harnmenge, so kann man erheblichen Täuschungen unterliegen. Auch diese Erscheinung kann neben anderen unvorhersehbaren Störungen des vielseitigen Leber/Niere-Systems mit ein

Grund sein, weshalb das Blei-Porphyrinuriesymptom bei den Untersuchungen an Großtieren versagte.

Nach Ermittlung des Normalwertes wurden 7 Tiere 13 Tage lang täglich mit 0,2 g Bleioxyd (entsprechend etwa 0,18 g Pb) gefüttert. (Das Bleioxyd wurde den natürlichen Verhältnissen entsprechend hier wie bei späteren Versuchen in Pillen verabreicht, die aus Rad. Liquir. und Extr. liqu. succ. mit Glycerin und Wasser bereitet, etwa 0,3 g schwer waren und hinter die Nagezähne auf die Zunge geschoben wurden.) Nach wenigen

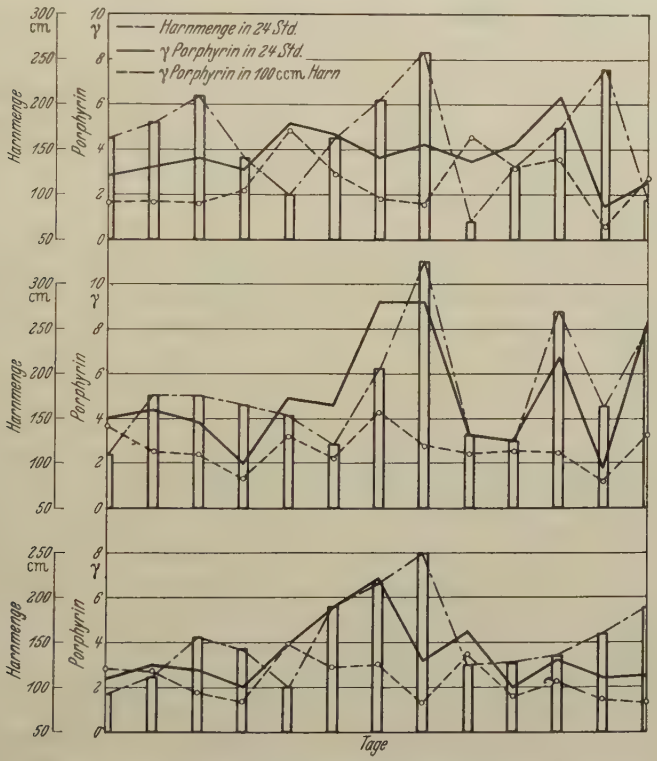


Abb. 1. Ausscheidung von Harn und von ätherlöslichen Porphyrinen im Harn von 3 Kaninchen.

Tagen bereits schnellten die Porphyrinwerte unter Schwankungen steil in die Höhe auf 200 und 300 γ Tagesausscheidung. Die Auswertung der γ%-Werte hatte bald keinen Sinn mehr, weil die täglichen Harnmengen bis auf wenige ccm heruntergingen. Nach 13 Tagen verendeten 4 Tiere. Die Lebern enthielten unterschiedliche Mengen von 5, 1,8, 0,8 und 7,8 mg Pb je 100 g Lebersubstanz. Bei den überlebenden Tieren vergingen noch 4 Monate, bis die Porphyrinausscheidung unter starken Schwankungen sich wieder stetig den Normalwerten angeglichen hatte.

Ein Vorversuch, zu dem allerdings nur zwei Tiere zur Verfügung standen, hatte folgendes Ergebnis:

Tiergewicht	2,3 kg	2,7 kg
6 Tagesgaben, je kg Körpergewicht	0,5 g Bleiacetat	0,5 g Bleioxyd
Insgesamt	5,7 g Bleiacetat	6,85 g Bleioxyd
Entspricht	3,1 g Blei	6,4 g Blei
Lebergewicht	69,5 g	40,0 g
Darin Blei	4,13 mg	1,39 mg
Entspräche in 100 g Lebersubstanz*	6,0 mg Pb	3,5 mg Pb
oder Anteil der angebotenen Bleimenge	0,13%	0,02%

Danach wie auch aus theoretischen Erwägungen lag die Vermutung nahe, daß das Bleiacetat, obschon es auch im Magen zunächst in das in Wasser nicht leicht lösliche Bleichlorid übergehen wird, im Verdauungswege leichter resorbiert wird als das wasserunlösliche Bleioxyd, das überhaupt nur durch Umwandlung in Bleichlorid löslich werden kann. [Auf die besonderen Einflüsse, die die Aufnehmbarkeit auch schwerlöslicher oder wasserunlöslicher Bleiverbindungen im Körper wesentlich abwandeln können, ist im Rahmen dieser Untersuchung nicht eingegangen worden. Vgl. darüber die ausführliche Abhandlung von Flury (32) und die daselbst zitierte umfangreiche Literatur.]

Für die weiteren Fütterungsversuche an Kaninchen wurde Bleiacetat verwendet. (Natürlich ist vom Bleiacetat auch eine verhältnismäßig stärkere Wirkung zu erwarten als von einer rein chemisch äquivalenten Menge bleihaltigen Flugstaubes, wenn dieser, wie die beschriebene Untersuchung zeigte, nur zu etwa $^1/_4$ Blei in leicht verdaulicher Form enthält.)

11 Monate nach dem ersten Versuch, als bei den überlebenden Kaninchen längst wieder normale Porphyrinmengen im Harn beständig auftraten und kein Anzeichen des Fortwirkens der überstandenen Vergiftung zu bemerken war, wurden einem dieser Tiere 3 Wochen lang täglich 0,05 g Bleiacetat, entsprechend 0,03 g Pb gereicht. Das ist, verglichen mit den Körpergewichten, mehr als das 20fache der Bleimengen, die Pferde und Rinder in der Praxis aus bleihaltigem Heu durchschnittlich aufnehmen. Außer einigen vorübergehend etwas erhöhten Porphyrinwerten, die unvermittelt auftraten und wieder tagelang von normalniedrigen Werten abgelöst wurden, war keinerlei Wirkung der Bleigaben zu beobachten. Es mag vorerst dahingestellt bleiben, ob es denkbar ist, daß das Tier durch die überstandene starke Vergiftung eine Art Gewöhnung erfahren hatte.

Vier bleifrei gehaltene, etwa 7 Monate alte und 2 kg schwere Kaninchen wurden nach Ermittlung ihrer normalen Porphyrinausscheidung täglich mit nur 0,01 g Bleiacetat, entsprechend 0,006 g Pb, gefüttert. Das entspricht, am Körpergewicht verglichen, in der Größenordnung ungefähr den durchschnittlichen Bleimengen, denen die Großtiere durch Fressen bleihaltigen Heus ausgesetzt sind. Eines der Tiere verendete 3 Wochen

* Die Umrechnung auf die Wertentsprechung von 100 g Lebersubstanz ist bei den Kaninchen natürlich nur sehr bedingt vergleichbar mit den Durchschnittswerten der Bleileberspeicher bei Großvieh (5, 17). — Über das Verhältnis von angebotener zu resorbierter Bleimenge arbeitete Behrens (34), vgl. dazu auch weitere Literatur bei Flury (32).

nach Versuchsbeginn an einem Unfall, der in keinem Zusammenhang mit der Bleifütterung stand. Es hatte da bereits einen Leberspeicher angelegt mit 0,2 mg Blei in der Leber von 65 g, oder 0,3 mg Pb auf 100 g Lebersubstanz, und hatte auch die ungewöhnlich hohe Menge von 0,62 mg Pb in 21 g Niere + 4 g Milz. Bei den anderen Tieren wurde die Fütterung insgesamt 3 Monate lang fortgeführt. Ganz vereinzelt traten kleine Erhöhungen der Porphyrinausscheidung auf, die nicht deutlich genug waren, um diagnostische Schlüsse zu gestatten und die sich schnell beruhigten. Nach Abbruch der Bleifütterung wurde die Porphyrinausscheidung noch 7 Monate lang überwacht, ohne daß sich irgendeine Veränderung zeigte.

Versuche zur Entbindung des Leberspeicherbleis mit Kaliumjodid.

U. Winkler (22) hat bei bleiverdächtigen Patienten die schon seit langem bekannte Jodkalitherapie angewandt und das gespeicherte Blei entbunden mit 14mal 2,85 g Tagesgaben Kaliumjodid; die Wirkung, die er auf Entbindung des gespeicherten Bleis zurückführt, hat er an der Zunahme der basophil getüpfelten Erythrocyten gemessen. Über andere Erfahrungen mit Kaliumjodideinfluß auf Bleivergiftung vgl. die umfangreichen Literaturangaben in Flurys Abhandlung (32). Es konnte danach denkbar erscheinen, daß auch die Porphyrinausscheidung im Harn durch eine solche Überschwemmung des Körpers mit entbundenem Blei vermehrt würde.

4 Monate nach dem ersten Versuch, als die Folgen der starken Bleivergiftung bei den überlebenden Tieren völlig abgeklungen waren, wurden einem dieser Tiere fünf Tagesgaben von je 0,1 g KJ gereicht; die Gabenreihe wurde nach 2 Wochen Pause wiederholt. In der Tat zeigten sich sprungweise Steigerungen der Porphyrinausscheidung, zeitweise bis zum 30fachen des normalen γ%-Wertes. Die Schwankungen dauerten auch nach Abbruch der KJ-Fütterung noch einige Tage an. Zwischen Tagen mit hoher Ausscheidung lagen mehrere Tage, an denen die Porphyrinwerte durchaus der Norm entsprachen; für quantitative diagnostische Auswertungen war die Erscheinung also zu unsicher.

Zu größerer Sicherheit wurde der Einfluß der Kaliumjodidfütterung in gleichen Mengen und Zeiten an vier Kaninchen geprüft, die bis dahin bleifrei gehalten worden waren. Die Gesamt-Porphyrinausscheidungen je Tag stiegen schon am zweiten oder dritten Tage nach der ersten Kaliumjodidgabe mit starken individuellen Schwankungen auf das Doppelte bis 4fache der normalen Werte, zugleich aber stiegen auch die Harnmengen, so daß die „γ%-Werte“ nur zeitweilig regellos und wenig über die Norm erhöht waren. Somit aber ist das Verfahren der Bleispeicher-Entbindung mit Kaliumjodid zu unsicher, als daß man es für Porphyrin-Untersuchungen von Harnproben der ambulanten Praxis verwenden könnte, die auf γ%-

Auswertung angewiesen ist und die durch Kaliumjodid oder andere Ursachen (Porphyrinreiz?) bedingte Harnvermehrung nicht messen kann.

Ein Versuch, im Harn von sicher bleikranken Pferden durch fünf Tagesgaben von je 10 g Kaliumjodid eine als „γ%“ meßbare Porphyrinvermehrung zu bekommen, hatte denn auch keinen Erfolg.

Über die Bleiausscheidung in Harn und Kot liegen zahlreiche Arbeiten vor. Da hier kein wesentliches neues Ergebnis zu erwarten war, wurde für die vorliegende Untersuchung auf die Ermittlung des Bleis in den Ausscheidungen verzichtet.

Es wäre ratsam gewesen, weiterhin Versuche an Schafen und Ziegen vorzunehmen, weil ja immerhin mit der Möglichkeit gerechnet werden muß, daß Kaninchen gegen subakute Bleivergiftung besonders widerstandsfähig sind. [Vgl. die von Behrens (34) festgestellte Widerstandsfähigkeit der Maus]. Weiter wäre es wünschenswert, die unterste Empfindlichkeitsgrenze des Porphyrinsymptoms zu vergleichen mit der des Symptoms der getüpfelten Erythrocyten (vgl. 26a), das nach den Beobachtungen von Schäfer (25), von Roth (31) und von Lehmann (37) noch weniger sicher sein dürfte. Die Weiterführung dieser Arbeit mußte jedoch zugunsten anderer Aufgaben vorerst abgebrochen werden.

Ergebnis und Vergleich mit Erfahrungen am Menschen.

In letzter Zeit finden sich humanmedizinische Mitteilungen über Bleivergiftungen, bei denen das Porphyrinsymptom ausblieb. [Vgl. z. B. den Bericht von Störring (23) über Vergiftungen mit Bleitetraäthylbenzin und Blei(oxyd?)staub]. Aus verschiedenen Beobachtungen muß der Schluß gezogen werden, daß man trotz der guten Erfolge, die Franke und Litzner (24), Schäfer (25) und viele andere aufweisen konnten, in etwa einem Viertel bis einem Drittel aller Fälle auf ein Versagen des Symptoms auch bei sicher bleigeschädigten Menschen gefaßt sein muß. Die Unsicherheit wird vermehrt durch die Unterschiedlichkeit der Angaben, welche Porphyrinmengen noch als „normal“ gelten sollen.

Franke und Fikentscher (26) nennen eine normale Porphyrinausscheidung im Harn bis zu 30 γ, bei körperlicher Arbeit bis zu 40 oder 60 γ je Tag. Schreus (27) gibt als höchste normale Tagesmenge 80 γ, Vanotti (6) als normal 10—80 γ an. Franke und Litzner (24) finden bei Gesunden 30—60 γ, bei Bleivergifteten 1000—3000 γ Tagesausscheidung und halten Ausscheidungen von 500 γ in 24 Stunden oder rund 50 γ% für beweisend für Bleivergiftungen, wenn andere Leber- und Nierenschädigungen ausgeschlossen sind; sie geben jedoch an, daß auch bei gesunden Bleiarbeitern die Täges-Porphyrinausscheidung 150 γ erreichen kann. In einer eigenen Untersuchung fanden wir bei einem bleigeschädigten Setzer nur 100 γ Tagesausscheidung. M. Schäfer (25), der sich übrigens ebenso wie Franke und Litzner (24) aus ähnlichen Gründen wie wir auf den Durchschnittsporphyringehalt von 100 ccm Harn, „γ%-Wert“, bezieht, hält 1,4—8 γ% oder bis zu 80—100 γ Tagesausscheidung noch für normal und findet bei Bleiarbeitern 6—160 γ%. Nach

Waldenströms Erfahrungen (mündliche Mitteilung) kann in 20—30% der Fälle sicherer Bleivergiftung das Porphyrinsymptom undeutlich werden. Nach H. v. d. Bergh und W. Grotepaß (30) kann im Organismus eine Porphyrinerhöhung ohne gleichzeitige Porphyrinurie auftreten.

Die offensichtliche Breite des Bereichs „normaler" Porphyrinausscheidungen bewirkt, daß eine schwache bleibedingte Porphyrinvermehrung bei einem Menschen mit normal schwacher Porphyrinausscheidung in der Größenordnung der Werte verbleiben kann, die bei Menschen mit normal starker Porphyrinausscheidung noch als normal angesprochen werden müssen. Ohne Kenntnis der früheren normalen Ausscheidung eines bleiverdächtigen Kranken kann also die Auswertung des Porphyrinuriesymptoms Schwierigkeiten machen gerade in Grenzfällen, in denen auch andere Symptome undeutlich sind. Dazu kommt die Vieldeutigkeit des Porphyrinuriesymptoms an und für sich, die eine sorgsam eingrenzende Diagnose fordert, und der unvorhersehbare Einfluß von allerlei anderen Faktoren auf seine Stärke oder Schwäche [vgl. z. B. die Porphyrinurieherabsetzende Wirkung von Nikotinsäure nach Lehmann und Flury (28) und nach E. S. Groß und Mitarbeitern (29)].

Das Kurvenbild in Schäfers Arbeit (25) zeigt, wie die Porphyrinausscheidung bei den meisten der untersuchten 25 Bleiarbeiter nur allmählich und nicht übermäßig stark sich über die Norm erhebt, und zwar ohne ersichtlichen Zusammenhang mit der mehr oder minder großen Stärke des sonst vorliegenden Gefährdungsgrades, und wie sie erst bei den wenigen Arbeitern plötzlich stark emporspringt, denen der Arzt schon auf Grund der übrigen Symptome eine „Gefährdung dritten Grades" zuschreiben mußte. In dieselbe Richtung deuten die Ergebnisse unserer Fütterungsversuche mit Kaninchen. Auch hier lief die Stärke des Porphyrinsymptoms nicht parallel mit der Menge des verfütterten Bleis; die „Empfindlichkeitsschwelle" des Symptoms lag erst bei ziemlich großen Bleimengen und wurde da plötzlich mit hohen Porphyrinwerten überschritten, während gleichzeitig schon andere schwere Störungen erkennbar wurden. Die Bleimengen, bei denen nach Behrens (34) der Grenzwert der Resorbierbarkeit erreicht wird, wurden unter unseren Versuchsbedingungen längst nicht dargeboten. Überhaupt liegen die in praktischer Tierhaltung durch flugstaubhaltiges Futter einverleibten Bleimengen wahrscheinlich auch beträchtlich unter den Mengen, die bei gewerblichen Vergiftungen des Menschen durchschnittlich wirksam zu werden pflegen, und hierin sehen wir eine Ursache für das Versagen des Porphyrinsymptoms beim subakut bleivergifteten Pflanzenfresser. Auf das häufige Versagen des Symptoms beim Menschen gerade in zweifelhaften chronischen Fällen haben schon Schmidt und Weyrauch (38) hingewiesen. Thoma (39) bemerkt, daß chronische Vergiftungen mit sehr geringen Bleimengen schließlich überhaupt nur noch in einer allgemeinen Minderung der Widerstandsfähigkeit des Organismus bemerkbar werden.

Ein zweiter Grund dafür, daß die humanmedizinischen Erfahrungen sich beim Tier nicht bestätigen ließen, liegt möglicherweise darin, daß die untersuchten Tierarten mit ihren porphyrinbildenden Faktoren überhaupt weniger empfindlich auf Bleivergiftung ansprechen als der Mensch, oder daß der Mensch hierin eine gewisse Überempfindlichkeit zeigt. Die vielen verstreuten Arbeiten, die sich in der Literatur finden, gründen sich auf sehr unterschiedliche quantitative Verhältnisse und Genauigkeiten und lassen sich kaum auf einen gemeinsamen Nenner bringen. Auch die hier berichteten Untersuchungen konnten nur einige neue Hinweise für die angedeutete Vermutung beitragen.

Schließlich muß noch ein dritter, wahrscheinlich der wichtigste Umstand hervorgehoben werden. Der Bleigehalt des Futters ist praktisch die einzige Bleiquelle, deren Größenordnung sich quantitativ auswerten läßt. Wie an anderer Stelle (17) ausgeführt, fanden wir in den Lebern von 126 bleivergifteten Pferden und Rindern nur in fünf Fällen wesentlich mehr als 1 mg, sonst durchschnittlich 0,5 mg Blei in 100 g Lebersubstanz, aber nicht so hohe Werte von 5,0 und 9,8 mg% Blei wie bei unseren mit der üblichen Menge bleiflugstaubhaltigen Heus gefütterten Versuchspferden, die doch die Vergiftung gut aushielten. Die diagnostische Auswertung der Bleimenge im Leberspeicher hat im allgemeinen bedingten Wert, weil das gespeicherte Blei durch die verschiedensten Einflüsse wieder herausgeschwemmt werden kann (32, 34, 17). Das Mißverhältnis ist im vorliegenden Fall aber doch zu groß, als daß man es vernachlässigen dürfte. Die Tiere, die in der praktischen Haltung bei niedrigerem Leberspeicher den Bleitod erlitten, müssen dem Blei noch in anderer gefährlicher wirksamer Form ausgesetzt gewesen sein als nur dem Flugstaub, der dem Futter anhaftete und auf dem Verdauungswege in den Körper kam. Diese andere Quelle kann nur die mit Bleiverbindungen behaftete Luft sein. Die wechselnden Bleimengen, die aus dieser Quelle her wirken, werden sich aber praktisch kaum quantitativ auswerten lassen.

Es ist bekannt (32, 35, 23a), daß das Blei in verschiedenen, auch „schwerlöslichen" Verbindungsformen vom Atemwege aus schnell resorbiert wird, und aus neueren Arbeiten (23) wird es immer deutlicher, daß eingeatmetes Blei ganze Symptomkomplexe verschleiern oder ausfallen lassen kann, die von den Wirkungen injizierter oder verfütterter Bleiverbindungen her geläufig sind; gerade auch das Porphyrinuriesymptom kann beim Einatmen von Bleiverbindungen fehlen. [Eingeatmetes Blei kann sogar die Leber umgehen (36)].

Somit ist es nicht möglich, subakute Bleivergiftung beim Pflanzenfresser durch Messen der Vermehrung ätherlöslicher Porphyrine im Harn zu bestimmen. Es ergibt sich aber auch aus dieser Untersuchung, daß man beim Ausmitteln von Vergiftungsursachen künftig mehr noch als bisher auf Bleiquellen achten muß, die das Blei auf anderem als dem Verdauungswege in den Körper gelangen lassen.

Zusammenfassung.

1. Das von Fikentscher (13) angegebene Verfahren zur Porphyrinbestimmung durch Messen der Rotfluoreszenz des salzsauren, über Ätherauszug gewonnenen Auszugs aus essigsaurem Harn im Pulfrich-Photometer arbeitet auch unter schwierigen Bedingungen mit einer Genauigkeit von $\pm 5\,\%$. Verschiedene Einwände gegen die Genauigkeit des Verfahrens ließen sich nicht bestätigen.

2. Die normale Ausscheidung ätherlöslicher Porphyrine beträgt im Harn gesunder Pferde durchschnittlich 6.3 γ in 100 ccm Harn. Im Rinderharn beträgt sie vielleicht gegen 2—4 γ in 100 ccm Harn, ließ sich aber nicht mit Sicherheit bestimmen. Im Kaninchenharn beträgt sie 2,4—3,7 γ in 100 ccm Harn oder, je nach Harnmenge, durchschnittlich 3—7 γ in 24 Stunden.

3. Der Körper scheint bestrebt zu sein, die Porphyrinkonzentration im Harn konstant zu halten, so daß anscheinend einer etwas vermehrten Porphyrinausscheidung schnell eine Vermehrung der Harnerzeugung folgt.

4. Wurden Pferde, Rinder und Kaninchen mit Bleimengen gefüttert, die in der Größenordnung etwa den mit bleiflugstaubhaltigem Futter aufgenommenen Bleimengen entsprachen, so blieb das Porphyrinsymptom entweder ganz aus, oder es war nur so schwach und unstet, daß es keinen allgemeinen diagnostischen Wert hatte. Das Porphyrinsymptom ließ sich auch nicht durch Entbindung des Bleis aus dem Leberspeicher mit Kaliumjodid hervorlocken; Kaliumjodid wirkt an und für sich etwas harntreibend.

5. Es ist wahrscheinlich, daß das Blei außer mit dem Futter auch durch Einatmen aufgenommen wird und gerade auf diesem zweiten Resorptionswege starke Wirkung entfaltet, aber auch Symptome der Bleivergiftung verschleiert.

6. Das Porphyrinsymptom ist nicht geeignet zur Diagnose einer versteckten Bleivergiftung am Pflanzenfresser.

Literatur.

1) Danckwortt, P. W.: Jubiläums-Nr. d. Dtsch. Tierärztl. Wschr. **1928**, S. 15. — 2) Dum, G. T., u. H. Bloxam: J. Soc. chem. Ind. **51**, 100 T (1932); C. **1934**, I, S. 3083. — 3) Höll, K.: Dtsch. Tierärztl. Wschr. **43**, 741 (1935). — 3a) Wiemann: Ebenda **42**, 765 (1934). — 4) Danckwortt, P. W., u. W. Ude: Arch. Pharmaz. **264**, 712 (1926). — 5) Danckwortt, P. W., u. K. Höll: Dtsch. Tierärztl. Wschr. **42**, 586 (1934). — 5a) Danckwortt, P. W., u. W. Gabel: Ebenda **45**, 605 (1937). — 6) Vanotti, A.: Porphyrine und Porphyrinkrankheiten. Berlin 1937. — 7) Carrié, C.: Die Porphyrine. Leipzig 1936. — 8) Stokvis, H. J. B.: Z. klin. Med. **28**, 1 (1895). — 9) Götze: Wien. klin. Wschr. **24**, 1727 (1911). — 10) Liebig: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **125**, 16 (1927). — 11) Lorente, L., u. H. Scholderer: Arch. Verdaukrh. **59**, 188 (1936). — 12) Steudel, H.: Z. exper. Med. **95**, 580 (1935). — 12a) Jores, A.: Z. klin. Med. **129**, 62 (1935). — 13) Fikentscher, R.: Biochem. Z. **249**, 257 (1932). — 14) Fink, H., u. W. Hoerburger: Hoppe-Seylers Z. **225**, 49 (1934). — 15) Tropp, C., u. A. Hofmann: Biochem. Z. **292**, 74 (1937). — 16) Fikentscher, R., u. K. Franke: Klin. Wschr. **13**, 285 (1934). —

17) Gabel, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 383 (1940). 18) Opsal, R.: Norsk Magasin for Laegevidenskapen **1935**, S. 66. — 19) v. Drigalski: Klin. Wschr. **16**, 1779 (1937). — 20) Brugsch, J.: Z. exper. Med. **98**, 49 (1936). — 21) Poulikakos, P., u. C. Tropp: Dtsch. Arch. klin. Med. **183**, 342 (1939). — 22) Winkler, U.: Med. Klin. **1937**, I, S. 637. — 23) Störring, E.: Dtsch. Z. Nervenheilk. **148**, 262 (1939). — 23a) Ehrhardt, W.: Arch. Gewerbepath. **9**, 407 (1939). — 24) Franke, K., u. St. Litzner: Z. Klin. Med. **129**, 115 (1936). - 25) Schäfer, M.: Reichsarbeitsblatt **1938**, III, S. 175. - 26) Franke, K., u. R. Fikentscher: Münch. med. Wschr. **1935**, I, S. 171. — 26a) Schreus, H. Th., u. C. Carrié: Z. Klin. Med. **125**, 330 (1933). — 27) Schreus, H. Th.: Med. Welt **1936**, S. 110. — 28) Lehmann u. Flury: Toxikologie und Hygiene der technischen Lösungsmittel. Berlin 1938. — 29) Groß, E. S., Y. Sassaki u. T. T. Spies: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **38**, 289 (1938); C. **1939**, I, S. 722. — 30) v. d. Bergh, H., u. W. Grotepaß: Wien. klin. Wschr. **50**, 830 (1937). 31) Roth, E.: Z. Klin. Med. **129**, 123 (1935). — 32) Flury, F.: in Heffter-Heubner: Handb. d. exper. Pharmakologie, III/3, S. 1677ff. Berlin 1934. — 33) Fröhner, E.: Lehrbuch d. Toxikologie für Tierärzte. Stuttgart 1927. — 34) Behrens, B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **109**, 332 (1925). — 35) Minot, A. S., u. J. C. Aub: J. Pharmacol. (Am.) **23**, 159 (1924) [zitiert nach (32)]. — 36) Minot, A. S.: J. industr. Hyg. **6**, 125, 137 (1924) [zitiert nach (32)]. — 37) Lehmann, K. L.: Arch. Hyg. (D) **94**, 1 (1924). — 38) Schmidt, P., u. F. Weyrauch: Über die Diagnostik der Bleivergiftung im Lichte moderner Forschung. Jena 1933. — 39) Thoma, G.: Med. Welt **1927**, S. 1255.

Aus dem Chemischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover.
(Direktor: Prof. Dr. P. W. Danckwortt.)

Zur Bewertung des Bleigehaltes der Leber.

(Untersuchungen an bleigeschädigten Pflanzenfressern.)

Von

W. Gabel.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 26. März 1940.)

Die subakute Bleivergiftung, die in der praktischen Tierhaltung häufig auftritt (1—6), zeigt oft nur undeutliche Symptome auch dann, wenn die Schädigung weit vorgeschritten ist. Die von Danckwortt und Mitarbeitern (2, 3) ausgearbeitete Mikrobleibestimmung in der Leber gestattet, die Diagnose nachträglich zu erhärten und damit auch versteckte Vergiftungsquellen aufzudecken.

Nach Mineralisieren der Leber mit rauchender HNO_3 wird das Blei über Sulfid und Chromat mit n/100 Natriumthiosulfatlösung jodometrisch bestimmt. Die oft gebrauchte Dithizonmethode erscheint uns wegen ihrer empfindlichen Abhängigkeit von den Versuchsbedingungen und wegen ihrer Vieldeutigkeit nicht genügend spezifisch.

Das diagnostische Auswerten des Bleigehaltes der Leber fordert einige Vorsicht. Es ist bekannt, daß die Bleispeicher im Körper, besonders auch der Leberspeicher, durch allerlei Einflüsse und Umstimmungen des Stoffwechsels abgebaut werden können. Darum ist es nicht zu verwundern, daß mitunter die Höhe des Bleigehaltes der Leber nicht gut übereinstimmte mit der Stärke der übrigen Symptome, die der behandelnde Tierarzt zuvor beobachtet hatte. Immerhin ließ sich sagen (3), daß eine lebenbedrohende Wirkung der stattgehabten Bleivergiftung als wahrscheinlich gelten konnte, wenn der Bleigehalt mehr als 0,2 mg (als Bleimetall berechnet) in 100 g Lebersubstanz betrug.

Im Laufe der Jahre sind dem Danckworttschen Institut eine große Anzahl Lebern von bleigeschädigten — eingegangenen oder notgeschlachteten — Pferden und Rindern aus der Veterinärpraxis zur Untersuchung eingeschickt worden. Die Zahl der Untersuchungen gestattet jetzt eine statistische Übersicht über einen mehrjährigen Zeitraum.

In dem untenstehenden Kurvenbild sind 126 Untersuchungen aus der Zeit vom 1. 1. 1930 bis 31. 12. 1939 zusammengetragen. Der untere Kurvenzug verbindet die Anzahl Fälle, die im Laufe der 9 Jahre jeweils in den einzelnen Monaten zur Untersuchung einliefen. Der obere Kurvenzug verbindet die durchschnittlichen Werte von mg Blei in 100 g Leber, die als Mittelwerte der monatlichen Untersuchungsgruppen gefunden

wurden. Um die Übersicht des Jahreslaufs zu erleichtern, sind vor dem Januar die Monate Oktober bis Dezember und hinter dem Dezember die Monate Januar bis April mit ihren Kurvenzügen wiederholt worden.

Die Kurven umfassen auch die wenigen Fälle mit, in denen wir nur Spuren oder praktisch überhaupt kein Blei in der Leber fanden, auch auf die Gefahr hin, daß hier einige Fehldiagnosen mit unterlaufen sein mögen und die Schädigung in der Tat nicht immer auf Bleivergiftung zurückzuführen war; auf den Richtungssinn der Kurvenzüge haben diese Werte keinen wesentlichen Einfluß. Die untere Kurve der Häufigkeit der Untersuchungen ist von Zufällen ziemlich unabhängig; rechnen wir nur die Untersuchungen vom Januar 1937 bis Dezember 1939, so bekommen

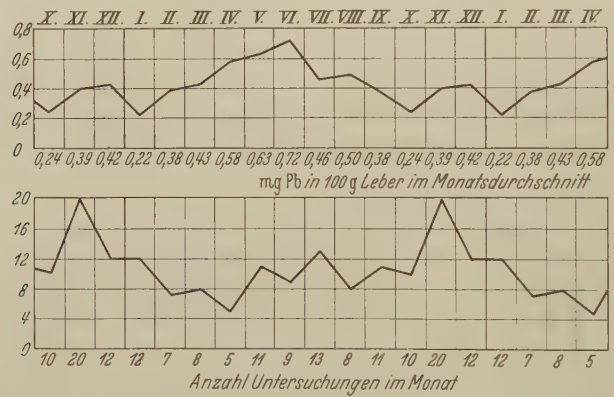


Abb. 1.

wir eine Kurve, die der dargestellten 9-Jahreskurve nahezu parallel läuft, insbesondere den gleichen Richtungssinn hat. — Die obere Kurve der durchschnittlichen Bleiwerte ist in den Monaten mit viel Untersuchungsfällen natürlich besser belegt als in den Monaten mit wenig Fällen.

Die Häufigkeit der offenkundig gewordenen Bleischädigungen steigt allmählich im Sommer, fällt etwas im Herbst, steigt dann steil im November und nimmt im Laufe des Winters ab. Die Höhe des durchschnittlichen Bleigehaltes in der Leber steigt im Sommer, fällt im Herbst ungefähr in der Zeit, in der die Häufigkeit der Fälle steigt, und steigt allmählich wieder den Winter hindurch bei den selteneren Fällen, die jetzt noch erkannt werden. Die beiden Kurven haben Neigung zur Gegenläufigkeit, und man kann den Eindruck vergröbert geradezu so umschreiben: je allgemeiner verbreitet Bleivergiftungen erkennbar werden, desto geringer sind die Bleimengen, die sich zu der Zeit — erst oder noch — in der Leber vorfinden.

Bei aller Zurückhaltung, die man gegenüber Statistiken beobachten muß, soll hier doch versucht werden, eine hypothetische Deutung unserer Beobachtungen zu geben.

Wir beginnen mit der Betrachtung im März/April.

1. Im Frühjahr mit dem Aufleben des Weidegangs steigt plötzlich die Zahl der Erkrankungen und bleibt mit Schwankungen hoch bis zum Juli August; dann sind die anfälligsten Tiere gefallen und es überleben die kräftigeren, die das Blei zum Teil durch Speicherbildung abgefangen haben. Der Bleiwert in der Leber steigt im Frühsommer mit der Zahl der Erkrankungen und sinkt mit ihr im Spätsommer; es ist möglich, daß unter klimatischen oder anderen jahreszeitlich bedingten Einflüssen Sommerspeicher zum Teil im Juli/August abgebaut werden. — Behrens (7) hat in allerdings kurzfristigen Versuchen nachgewiesen, daß die Leber nur als Eingangsspeicher dient und das Blei bald an andere Organe und besonders an die offenbar fester haftende Knochenspeicherung abgibt. Diese Beobachtung wird auch von Fellinger (8) bestätigt, der beim Menschen Störungen der Leberfunktionen häufiger bei frischeren Bleivergiftungen fand.

2. Im Oktober/November mit Beginn der Stallfütterung und der dadurch bedingten chemischen Umstimmung des Stoffwechsels steigt die Zahl der offenkundig gewordenen Erkrankungen plötzlich zu einem Maximum. Das ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine Überschwemmung des Körpers mit gespeichert gewesenem und nunmehr entbundenem Blei, u. a. auch Leberspeicher-Blei zurückzuführen, und zwar dürfte die tödliche Schädigung etwas schleppend zur Geltung kommen, denn schon die noch im Oktober nicht eben zahlreich fallenden Tiere haben auffallend wenig Blei in der Leber übrigbehalten.

3. Nach dem großen Schub im November sinkt die Zahl der schweren oder tödlichen Erkrankungen allmählich den Winter hindurch. Es fallen mit der Zeit auch die an Zahl geringeren kräftigeren Tiere, die die Überschwemmung des Körpers mit entbundenem Speicher-Blei länger ausgehalten haben und demnach — im Januar — nur noch wenig Blei in der Leber haben.

4. Es bleiben schließlich nur noch die kräftigsten Tiere übrig, die noch bis ins Frühjahr hinein durchhalten und deren Speicher-Blei dem Abbau auffallend lange Widerstand leistete. So sind bei den wenigen Todesfällen im März/April die Bleiwerte in der Leber wieder höher.

5. Der nach aufwärts weisende Auslauf der Bleiwertkurve im März, der hier noch von übriggebliebenen Leberspeichern der letzten Opfer des vorjährigen Weidegangs herrührt, verschmilzt im April mit den schnell ansteigenden Leberbleiwerten der frischen Vergiftungen des neuen Weidegangs, deren erste Opfer unter den sonstigen unmittelbaren Einwirkungen der akuten Vergiftungen fallen, ehe mittelbar ihr eben angelegter Leberbleispeicher wirksam werden konnte.

Im Jahresdurchschnitt lag der Bleigehalt der Lebern bei 0,5 mg in 100 g Lebersubstanz. Unter den 126 einzelnen Werten fanden wir

nur 5, die wesentlich über 1 mg% Blei (mit 1,5; 1,7; 1,7; 2,3 und 5 mg%) lagen. Die Tiere waren trotz dieser geringen in der Leber gespeicherten Bleimengen so geschädigt, daß sie eingingen oder notgeschlachtet werden mußten. Wir fütterten zum Vergleich zwei Versuchspferde (mittelschwere Hannoveraner) 6 Monate lang täglich mit 4 kg Heu, das in 1 kg etwa 0,32 g Pb, davon rund ein Viertel in leicht verdaulicher Form enthielt. [Der Versuch diente, wie an anderer Stelle berichtet wird (9), dem Studium des Porphyrinuriesymptoms.] Die Tiere bekamen also täglich 1,3 g oder in den 6 Monaten etwa 240 g Blei, davon ein Viertel leicht resorbierbar. Im Laufe der Monate entwickelten sich unter häufigem Schwanken der Deutlichkeit die Symptome einer mäßigen chronischen Bleivergiftung. Das eine Pferd ging danach an einer Lungenentzündung ein, die in keinem Zusammenhang mit der Bleivergiftung stand, und das andere wurde zur Untersuchung der Leber geschlachtet, obwohl der Zustand zu der Zeit eine Notschlachtung noch nicht gefordert hätte. Die Lebern enthielten die hohen Mengen von 5,0 und 9,8 mg% Blei.

Vergleicht man diesen hohen Bleigehalt der Leber mit den meist viel geringeren Bleimengen in den Lebern der Tiere, die in der Praxis tödlich bleigeschädigt wurden, dann liegt der Schluß nahe, daß die Tiere in der praktischen Tierhaltung Blei noch auf andere, gefährlicher wirksame Weise aufgenommen haben als im Verdauungstrakt durch das bleiflugstaubhaltige Futter. Diese Bleiquelle kann in den meisten Fällen nur die Luft in der Nähe industrieller Betriebe sein, die den Bleiflugstaub ja auch an das Futter heranführt. Der Schluß steht im Einklang mit den Erfahrungen der experimentellen Pharmakologie und der Humanmedizin über die Gefährlichkeit der Resorption von Blei durch die Lungen. Das umfangreiche Schrifttum über diese Frage hat bis 1933 Flury (10) ausgewertet; von jüngeren Arbeiten seien hier nur die Berichte von Kötzing (11), Ehrhardt (12) und Störring (13) angeführt.

Daraus folgt, daß die Bleieinwirkung während des sommerlichen Weidegangs wesentlich mit durch das Einatmen bestimmt wird, und daß vom Herbst an mit Beginn der Stallfütterung Blei praktisch nur noch mit dem Futter auf dem minder stark wirksamen Wege der Verdauung zugeführt wird. Nach Behrens (7) und Aub (14) ist anzunehmen, daß die Leber jedenfalls den ersten Eingangsspeicher darstellt, bald aber das Blei an fester haftende Speicherorgane abgibt. Freilich kann eingeatmetes Blei klassische Symptome der Bleivergiftung verschleiern, nach Minot (15) sogar die Leber umgehen. Es muß also immer mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß auch bei ziemlich starker frischer Bleivergiftung die Höhe des Bleigehaltes der Leber nicht gut mit der Stärke der tatsächlich vorhandenen Schädigung des gesamten Organismus übereinstimmt.

Noch verwickelter gestalten sich die Zusammenhänge durch die Empfindlichkeit der Bleispeicher, zumal des Leberspeichers, gegen bleientbindende Einflüsse. Das umfangreiche, zerstreute und widerspruchs-

volle Schrifttum über diese zum großen Teil noch unsicher erkannten Einwirkungen hat Flury (10) bis 1933 zusammengestellt. Von den seither veröffentlichten Arbeiten sollen hier nur einige in diesem Zusammenhang beachtliche Ergebnisse angeführt werden.

Nach Weyrauch und Necke (16) steigt die Bleiresorption bei Grünfütterung. Schmitt und Taeger (17) untersuchen die bleientbindende Wirkung u. a. von alkalischer und saurer Kost, calciumarmer wie calciumreicher Kost, Natriumbicarbonat und Ammoniumchlorid. Als wesentlich für die Bleispeicherung und Speicherentleerung betrachten sie die Änderung der Calciumverteilung zwischen Plasma und Erythrocyten einerseits und Gewebe andererseits. Während Schretzenmayr und Bauer (18) mit großen Calciumgaben eine therapeutische Wirkung erreichen, indem sie das Blei festlegen, findet dagegen Taeger (19), daß große Mengen Calcium eher bleientbindend wirken; Calcium kann in den Knochen vielleicht zum Teil durch gespeichertes Blei verdrängt werden. Jede p_H-Änderung wirkt bis zur Einstellung des neuen Gleichgewichts bleientbindend. Nach Mangeri und Santi (22) ist Magnesiumsulfat therapeutisch noch wirksamer als Calciumgluconat. Im Gegensatz zum Teil zu den vorgenannten stellen Hesse und Zeppmeisel (20) fest, daß eine Vergiftung mit hohen sicher letalen Bleimengen durch gleichzeitiges Verabreichen von speicherabbauenden Gegenmitteln nicht hintangehalten werden kann. Schmitt und Lossie (21) untersuchen die bleientbindende Wirkung von Natriumthiosulfat und finden eine zeitweise Gegensätzlichkeit zwischen Bleigehalt im Blute und Chlorgehalt in den Erythrocyten. Nach Sobel und Mitarbeitern (23) steigt die Bleispeicherung in den Knochen, wenn die Knochenbildung durch Zufuhr von Vitamin D gesteigert wird. Nach Tompsett (24) wird die Bleiresorption durch calciumreiche Nahrung geschwächt, durch calciumarme gesteigert; das stimmt überein mit dem erwähnten Befund von Taeger (19). Dann aber finden Tompsett und Chalmers (25), daß viel Calcium das Blei aus dem Gewebe in die Knochen, wenig Calcium das Blei aus den Knochen in die Gewebe treibt. Nach Holmes und Mitarbeitern (26) besteht eine gewisse Gegensätzlichkeit zwischen dem Gehalt des Harns an Vitamin C und an Blei, und Zufuhr von Vitamin C verringert die Bleiausscheidung.

Die vielen zum Teil einander widersprechenden Untersuchungsergebnisse verraten die Schwierigkeiten, die einer Erkenntnis dieser verwickelten physiologischen Zusammenhänge entgegenstehen. Die Vielseitigkeit der Beobachtungen bestärkt aber auch die Annahme, daß eine so kräftige Umstimmung des Organismus, wie der herbstliche Übergang von der Weide und Grünfütterung zur sonnenarmen Stallhaltung, auf die Haftfestigkeit der Bleispeicher in den verschiedenen Organen einen starken lockernden Einfluß ausübt.

Für fernere Untersuchungen über Bleivergiftung in der praktischen Tierhaltung wird sowohl das Eindringen des Bleies auf anderem als dem Verdauungswege, wie die Haftfestigkeit und Abbauneigung der Bleispeicher in den verschiedenen Organen besonders zu beachten sein.

Die Ergebnisse der statistischen Übersicht über unsere Untersuchungen und die Schlüsse, die wir daraus glauben ziehen zu dürfen, stellen wir zur Erörterung in der Hoffnung, daß sich aus einem Vergleich mit anderen Reihenuntersuchungen neue Erkenntnisse werden gewinnen lassen.

Zusammenfassung.

Die Ergebnisse der Untersuchung von 126 Lebern bleigeschädigter Pferde und Rinder aus dem Zeitraum von 9 Jahren werden zu Monatsdurchschnitten statistisch zusammengestellt.

Die Häufigkeit der offenkundig gewordenen Bleischädigungen steigt allmählich im Sommer, fällt etwas im Herbst, steigt steil im November und fällt wieder stark den Winter hindurch. Die durchschnittliche Menge von Blei in der Leber steigt im Sommer mit an, fällt dann aber gegen den Herbst und steht zeitweise nahezu im Gegensatz zur Häufigkeit der Fälle.

Wahrscheinlich beruht nur im Sommer die Steigerung der Häufigkeit der Bleivergiftung auf akut wirksamen Bleieinwirkungen, und zwar zu einem wesentlichen Teil auf Einatmen von Bleiflugstaub, während die Häufigkeit der offenkundig gewordenen Vergiftungen im Herbst erst mittelbar auf die Überschwemmung des Körpers mit Blei zurückzuführen ist, das anläßlich des Übergangs zur Stallhaltung durch chemische Umstimmung des Organismus aus den bleispeichernden Organen herausgeschwemmt wurde.

Literatur.

1) Danckwortt, P. W.: Jubiläums-Nr. d. Dtsch. Tierärztl. Wschr. **1928**, S. 15. — 2) Danckwortt, P. W., u. W. Ude: Arch. Pharmaz. **264**, 712 (1926). — 3) Danckwortt, P. W., u. K. Höll: Dtsch. Tierärztl. Wschr. **42**, 586 (1934). — 4) Dum, G. T., u. H. Bloxam: J. Soc. chem. Ind. **51**, 100 T (1932); C. **1934**, I, S. 3083. — 5) Wiemann: Dtsch. Tierärztl. Wschr. **42**, 765 (1934). — 6) Höll, K.: Ebenda **43**, 741 (1935). — 7) Behrens, B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **109**, 332 (1925). — 8) Fellinger, K.: Arch. Gewerbepath. **7**, 414 (1936). — 9) Gabel, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 365 (1940). — 10) Flury, F., in Heffter-Heubner: Handb. d. exper. Pharmakologie, III/3, S. 1677ff. Berlin 1934. — 11) Kötzing, K.: Ärztl. Sachverständigenztg. **1937** [zitiert nach Dtsch. med. Wschr. **63**, 1641 (1937)]. — 12) Ehrhardt, W.: Arch. Gewerbepath. **9**, 407 (1939). — 13) Störring, E.: Dtsch. Z. Nervenheilk. **148**, 262 (1939). — 14) Aub, J. C.: J. amer. med. Assoc. **104**, H. 2 (1935) [zitiert nach Pharm. Zentralh. **78**, 554 (1937)]. — 15) Minot, A. S.: J. industr. Hyg. **6**, 125, 137 (1924) (zitiert nach 10)]. — 16) Weyrauch, F., u. A. Necke: Z. Hyg. usw. **114**, 629 (1933). — 17) Schmitt, Fr., u. H. Taeger: Z. exper. Med. **101**, 21 (1937). — 18) Schretzenmayr, A., u. H. Bauer: Ebenda **98**, 478 (1936). — 19) Taeger, H.: Klin. Wschr. **16**, 1013 (1937). — 20) Hesse, E., u. L. Zeppmeisel: Ebenda, S. 1027. — 21) Schmitt, Fr., u. H. Lossie: Dtsch. Arch. klin. Med. **182**, 200 (1938) u. **184**, 405 (1939). — 22) Mangeri, S., u. C. Santi: Med. lav. **1938**; ref. Dtsch. med. Wschr. **64**, 907 (1938). — 23) Sobel, A. E., O. Gawron u. B. Kramer: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **38**, 433 (1938); C. **1938**, II, S. 1077. — 24) Tompsett, S. L.: Biochem. J. (Brit.) **33**, 1237 (1939); C. **1939**, II, S. 4518. — 25) Tompsett, S. L., u. J. N. M. Chalmers: Biol. J. exper. Pathol. **20**, 408 (1939); C. **1939**, II, S. 4529. — 26) Homes, H. N., K. Campbell u. E. J. Amberg: J. Lab. chim. med. **24**, 1119 (1939); C. **1939**, II, S. 4529.

Wirksamkeits- und Konzentrationsbestimmung durch Tierversuche.

Von

B. L. van der Waerden in Leipzig.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. Mai 1940.)

Um die biologische Wirksamkeit eines Präparates zu prüfen, oder um (wenn chemische Mittel etwa versagen) die Konzentration des Wirkungsstoffes mit der eines anderen Präparats desselben Stoffes zu vergleichen, wird das Präparat in abgestuften Dosen einer Anzahl von Versuchstieren verabreicht und festgestellt, wieviel Tiere jeweils in bestimmter Weise reagieren. Das primitivste Verfahren zur Auswertung der so erhaltenen Versuchsergebnisse besteht darin, daß man festsetzt: Sobald ein bestimmter Prozentsatz (etwa 75 oder 80 %) von den untersuchten Tieren reagiert, ist die „Normaldosis" erreicht. Dieses Verfahren ist aber nicht sehr genau und stößt unter Umständen auf Schwierigkeiten, wenn zufällig bei einer größeren Dosis einmal weniger Tiere reagieren als bei einer kleineren. Man hat daher genauere rechnerische Auswertungsverfahren ausgearbeitet.

Das Ziel dieser Abhandlung ist, die verschiedenen Rechenmethoden, die zur Auswertung der Versuchsergebnisse vorgeschlagen worden sind, auf ihre Genauigkeit hin zu untersuchen und die Bedingungen ihrer Anwendbarkeit anzugeben.

Um etwas Bestimmtes vor Augen zu haben, nehmen wir an, es handle sich um einen Giftstoff, obwohl alle Rechnungen genau so verlaufen, wenn es sich um andere Stoffe mit spezifischer Wirkung, z. B. um Vitamine handelt, deren Konzentration oder Wirksamkeit man bestimmen will. Die Wirkung des Giftes werde an einem bestimmten Merkmal beurteilt, z. B. ob das Versuchstier Krämpfe kriegt oder innerhalb einer bestimmten Zeit stirbt. Welches Merkmal man zugrunde legt, ist Sache der Physiologen und für die mathematische Behandlung gleichgültig; wir nehmen etwa an, es handle sich um den eintretenden Tod.

Der folgende § 1 enthält allgemeine Vorbemerkungen. Die § 2, 3, 4 behandeln verschiedene numerische Auswertungsverfahren.

§ 1. Wirkungskurven.

Die tödliche Dosis eines Versuchstieres ist bei den meisten Giften starken Schwankungen unterworfen. Es gibt eine Dosis, wir nennen sie die 50 %-Dosis (DL 50), die durchschnittlich 50 % aller Versuchstiere tötet. Es kann aber Tiere geben, die eine fünfmal größere Menge vertragen, oder auch solche, die an einer fünfmal kleineren Dosis schon sterben.

Solange man zu einer bestimmten Jahreszeit mit einem bestimmten Tiermaterial arbeitet, gehört zu jeder Giftdosis eine Mortalität: eine Zahl p, die angibt, wieviel Prozent der Versuchstiere im Durchschnitt an der betreffenden Dosis sterben. Bei der Dosis 0 wird die Mortalität 0% betragen; bei zunehmender Dosenstärke wächst sie immer stärker an bis etwa 50%, sodann wächst sie immer langsamer an, um bei sehr großen Dosen den Wert 100% zu erreichen. Man kann auch annehmen, daß die Mortalität den Wert 100% nicht erreicht, sondern sich nur diesem Wert unbeschränkt nähert; jedoch kommt das praktisch auf dasselbe hinaus, als wenn der Wert 100% wirklich erreicht wird. Stellt man die Mortalität p als Funktion der Dosis graphisch dar, so erhält man eine S-förmige Kurve, die Wirkungskurve des betrachteten Giftes (Fig. 1).

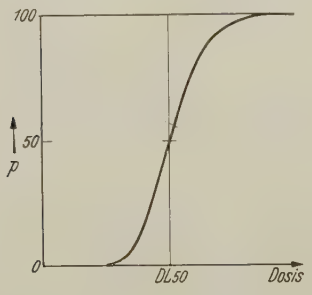


Fig. 1. Wirkungskurve.

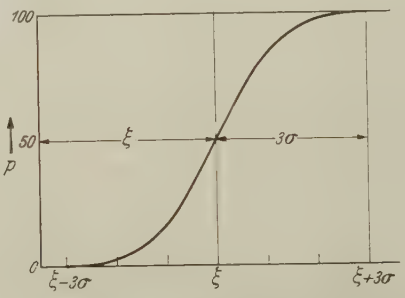


Fig. 2. Wirkungskurve in Logarithmen.

Es hat sich sowohl für die Zeichnung der Wirkungskurve als für ihre mathematische Behandlung als zweckmäßig ergeben, auf der horizontalen Achse nicht die Dosen selbst, sondern ihre Logarithmen x abzutragen (Fig. 2). Der Vorteil ist nämlich der, daß die logarithmische Wirkungskurve in den meisten Fällen symmetrisch in bezug auf ihren Mittelpunkt ist: sie nähert sich rechts ebenso rasch dem Endwert 100% als links der Null. Dazu kommt noch der wichtige praktische Vorteil, daß einer Änderung der Konzentration des Giftes immer eine Parallelverschiebung der logarithmischen Wirkungskurve entspricht: ist ein Präparat z. B. zweimal konzentrierter als ein anderes, so liegt seine Wirkungskurve um $\log 2 = 0{,}30$ mehr nach links. — Wenn man sich auf die ersten zwei oder drei Dezimalstellen im Logarithmus beschränkt, macht das Aufsuchen der Logarithmen auch keine große Mühe.

Die häufigste Form der Wirkungskurve ist die normale Wirkungskurve, die in Fig. 2 dargestellt ist. Sie ist eine „integrierte Gaußsche Fehlerkurve" und hängt von zwei Konstanten ab:

die eine, ξ, der Logarithmus der 50%-Dosis, bestimmt die Lage des Mittelpunktes der Kurve;

die andere, σ, die Streuung der tödlichen Dosis, bestimmt die Breite der Kurve in dem Sinne, daß in einem Abstand $3\,\sigma$ links vom Mittel-

punkt die durch die Wirkungskurve dargestellte Mortalität nahezu = 0 ist, während sie im gleichen Abstand rechts vom Mittelpunkt kaum von 100 % zu unterscheiden ist.

Die normalen Wirkungskurven sind dadurch charakterisiert, daß sie durch eine bestimmte Deformation der p-Achse in Geraden verwandelt werden können. Die deformierte p-Skala ist in Fig. 3 ganz links dargestellt. Sie wird erhalten, indem an Stelle von p eine Größe y abgetragen wird, die nach einem bestimmten Gesetz (vgl. die Tabelle am Schluß der Arbeit, Spalten 2 und 3) von $-\infty$ über 0 nach $+\infty$ geht, während p von 0 über 50 % nach 100 % geht[1]. In der xy-Ebene wird die Wirkungskurve zu einer Geraden mit der Gleichung

$$y = \frac{x - \xi}{\sigma}.$$

Man nennt sie die Wirkungsgerade (siehe Fig. 3).

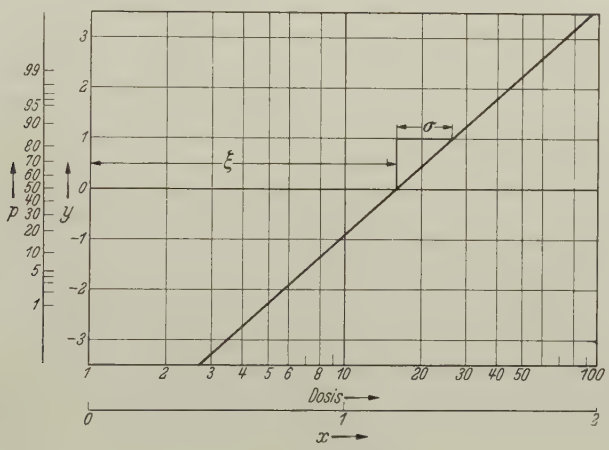


Fig. 3. Wirkungsgerade.

Zum Zeichnen einer experimentell bestimmten Wirkungsgeraden benutzt man zweckmäßig das logarithmische Wahrscheinlichkeitspapier von Schleicher und Schüll (Düren), Nr. 297½ A 3, das so eingerichtet ist, daß man zu jedem Punkt (x, y) direkt die Dosis (deren Logarithmus x ist) und die Mortalität p (die nur von y abhängt) ablesen kann.

Der Schnittpunkt der Wirkungsgeraden mit der x-Achse ergibt direkt die 50 %-Dosis bzw. deren Logarithmus ξ, während die Steigung der Geraden den Wert σ bestimmt (siehe Fig. 3).

[1] Mathematisch ist der Zusammenhang zwischen p und y durch

$$p = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{y} e^{-\frac{1}{2}t^2} \, dt$$

gegeben.

Das Ziel aller Auswertungsmethoden ist die Bestimmung der 50 %-Dosis oder einer damit gleichwertigen Größe, die zur Festlegung der Konzentration bzw. der Wirksamkeit eines Präparats genügt. Hat man dann zum Vergleich ein irgendwie geeichtes Standardpräparat, so weiß man, daß die 50 %-Dosis eines gerade untersuchten Präparats dieselbe Giftmenge enthält (oder allgemeiner dieselbe Wirksamkeit hat) wie die 50 %-Dosis des Standardpräparats.

Ist die 50 %-Dosis des Standardpräparats zeitlich konstant, so braucht man sie nur einmal zu bestimmen; ist aber die Giftempfindlichkeit der Tiere erheblichen zeitlichen Schwankungen unterworfen oder wird das Tiermaterial gewechselt, so muß man jedesmal die 50 %-Dosis des Standardpräparats zugleich mit der 50 %-Dosis des gerade untersuchten Präparats neu bestimmen.

Sofern ein Präparat sich vom Standard nur durch die Konzentration des Giftstoffs unterscheidet, muß seine Wirkungskurve oder Wirkungsgerade parallel zur Wirkungskurve bzw. Wirkungsgeraden des Standardpräparats sein. Der horizontal gemessene Abstand zwischen den beiden Kurven oder Geraden ist dann gleich dem Logarithmus des umgekehrten Verhältnisses der Konzentrationen.

Etwas schwieriger wird die Sache bei solchen Präparaten, deren Wirksamkeit auch bei gleicher Konzentration verschieden sein kann, wie es bei Impfstoffen u. dgl. häufig der Fall ist. Hier ist die Parallelität der Wirkungsgeraden eine Arbeitshypothese, die man zugrunde legen wird, solange das Gegenteil nicht erwiesen ist. Die Hypothese bedeutet, daß nicht nur die 50 %-Dosis des Präparats dieselbe Wirksamkeit hat wie die des Standardpräparats, sondern daß auch jedes Vielfache der 50 %-Dosis gleich stark wirkt wie das entsprechende Vielfache vom Standardpräparat.

Wenn im folgenden von der „Dosis x" die Rede ist, ist diejenige Dosis gemeint, deren Logarithmus gleich x ist.

An der Dosis x mögen von n Versuchstieren k sterben und $\bar{k}$ am Leben bleiben, wobei $k + \bar{k} = n$ ist. Die experimentell gefundene Häufigkeit des Sterbens ist also

$$h = \frac{k}{n}.$$

Sie ist näherungsweise, aber nicht genau gleich der durch die Wirkungskurve gegebenen Mortalität p, denn p hängt nur von der Dosenstärke, h aber auch von der zufälligen Auswahl der herangezogenen Versuchstiere ab. Zu mehreren Dosen $x_1, x_2, \ldots, x_s$ mögen in derselben Weise die Tierzahlen $n_1, n_2, \ldots, n_s$, die Häufigkeiten $h_1, h_2, \ldots, h_s$ gehören. Die Aufgabe ist, aus diesen beobachteten Häufigkeiten die Größe ξ, den Logarithmus der 50 %-Dosis, möglichst genau zu bestimmen.

§ 2. Die Flächenmethode (Methode von Behrens und Kärber).

Diese Methode wurde von Wirth[2] zuerst in die Psychophysik, von Behrens und Kärber[3] in die Pharmakologie eingeführt. Sie hat vor anderen Methoden den Vorzug, daß sie sehr wenig Rechnung erfordert. Die Normalität der Wirkungskurve wird bei ihr nicht vorausgesetzt; die Wirkungskurve muß nur bei 0% anfangen und bis 100% aufsteigen. Ist die Wirkungskurve symmetrisch, so liefert die Methode direkt die 50%-Dosis; ist sie es nicht, so ergibt das Verfahren statt dessen eine „mittlere tödliche Dosis", die sich um eine Kleinigkeit von der 50%-Dosis unterscheiden kann, aber ebensogut brauchbar ist wie diese.

Die verwendeten Tierzahlen können bei dieser Methode ruhig klein sein; sogar bei nur einem Tier je Dosis ist die Methode anwendbar, wenn auch ihre Genauigkeit dann naturgemäß kleiner wird. Erforderlich ist aber, daß die Dosen nicht allzuweit auseinander liegen. Am praktischsten ist es, wenn die Dosen ungefähr eine geometrische Reihe, ihre Logarithmen somit eine arithmetische Reihe bilden. Die Differenz der letzteren Reihe muß klein gegen die halbe Breite $3\,\sigma$ der Wirkungskurve sein. Erforderlich ist weiter, daß die Reihe der Dosen nach beiden Seiten soweit fortgesetzt wird, daß man annehmen kann, daß bei noch weiterer Fortsetzung der Reihe die nächstgrößere Dosis fast 100% Mortalität, die nächstkleinere Dosis fast 0% Mortalität ergeben würde.

Behrens und Kärber haben ursprünglich die Rechenmethode auf die Dosen selbst angewandt. Ich möchte aber vorschlagen, sie (mit Gaddum) lieber auf die Logarithmen der Dosen anzuwenden, da die Symmetrie der Wirkungskurve die Genauigkeit erhöht. Der Rechenaufwand erhöht sich bei Verwendung der Logarithmen kaum, insbesondere dann nicht, wenn die Dosenfolge so gewählt wird, daß die Logarithmen regelmäßig ansteigen, wie z. B.:

Dosis.....	1,0	1,6	2,5	4,0	6,3	10	16 usw.
Logarithmus	0,00	0,20	0,40	0,60	0,80	1,00	1,20.

1. Die mittlere tödliche Dosis M und ihre Berechnung.

Es sei x_ω der Logarithmus einer so starken Dosis, daß die zugehörige Mortalität fast $= 100\%$ ausfällt. Man zeichne in die Figur der Wirkungskurve an der Stelle x_ω eine senkrechte Gerade. Nun konstruiere man eine zweite senkrechte Gerade links von der ersten so, daß die Rechtecksfläche zwischen den beiden Senkrechten gleich der (in der Abbildung schraffierten) Fläche unterhalb der Wirkungskurve ist. Die Stelle der zweiten senkrechten

---

[2] Wirth, W.: Wundt's psychologische Studien **6**, 141 (1940); vgl. auch Wirth, Psychophysik, Leipzig 1912. — [3] Kärber, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162**, 480 (1931).

Geraden (in Fig. 4 mit M bezeichnet) ergibt dann den Logarithmus der „mittleren tödlichen Dosis“[4]. Im Falle einer symmetrischen Wirkungskurve ist $M = \xi$.

Ist x_0 der Logarithmus einer Dosis, die praktisch von allen Tieren noch vertragen wird ($p = 0\,\%$) und sind $x_1, \ldots, x_s$ Dosenlogarithmen, die genügend dicht zwischen x_0 und x_ω verteilt sind, setzt man schließlich $x_{s+1} = x_\omega$, so kann man die Fläche F unterhalb der Wirkungskurve mit genügender Genauigkeit durch eine Summe von Trapezflächen ersetzen:

$$F = \frac{p_0 + p_1}{2}(x_1 - x_0) + \frac{p_1 + p_2}{2}(x_2 - x_1) + \cdots + \frac{p_{s-1} + p_s}{2}(x_s - x_{s-1}) + \frac{p_s + p_{s+1}}{2}(x_{s+1} - x_s).$$

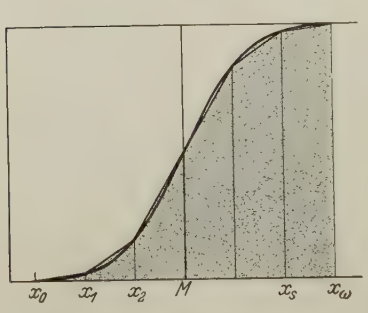


Fig. 4.

Diese Fläche soll nun gleich der Fläche eines Rechtecks von der Höhe 1 sein, dessen Basis $x_\omega - M$ ist:

$$F = x_{s+1} - M, \quad \text{also} \quad M = x_{s+1} - F.$$

Sucht man in F die Glieder mit p_1, mit p_2, usw. zusammen und beachtet noch, daß $p_0 = 0$ und $p_{s+1} = 1$ angenommen wurde, so erhält man:

$$(1) \quad M = \frac{x_s + x_{s+1}}{2} - \frac{1}{2}\{p_1(x_2 - x_0) + p_2(x_3 - x_1) + \cdots + p_s(x_{s+1} - x_{s-1})\}.$$

Dies ist also die Definition der mittleren tödlichen Dosis. Die exakten Werte der p kennt man aber nicht; also wird man $p_1, p_2, \ldots, p_s$ durch die beobachteten Häufigkeiten $h_1, h_2, \ldots, h_s$ ersetzen, deren Mittelwerte sie sind. Man erhält so die Größe

$$(2) \quad L = \frac{x_s + x_{s+1}}{2} - \frac{1}{2}\{h_1(x_2 - x_0) + h_2(x_3 - x_1) + \cdots + h_s(x_{s+1} - x_{s-1})\}.$$

Diese Größe L ist im Mittel gleich dem gesuchten M und kann daher als Näherung für M benutzt werden. In der Formel (2) bedeuten also:

$x_1, x_2, \ldots, x_s$ die Logarithmen der Versuchsdosen,

$h_1, h_2, \ldots, h_s$ die beobachteten Sterblichkeitsquotienten,

x_0 und x_{s+1} eine (hinzugedachte) allerkleinste und allergrößte Dosis, von denen man annimmt, daß ihre Mortalitäten fast 0 bzw. 100 % betragen[5].

Im Falle $h_s = 1$ hängt L von x_{s+1} gar nicht ab; man kann dann also $x_{s+1} = x_s$ oder $= x_{s-1}$ wählen.

[4] Man kann M auch durch die weiße Fläche links von der Wirkungskurve definieren: $M = \int x\,dp$. Aus dieser Integraldarstellung folgt, daß M der Mittelwert der individuell tödlichen Dosen aller Versuchstiere ist. — [5] „Fast 100 %“ bedeutet hier etwa: zwischen 95 und 100 %.

2. Der mittlere Fehler von L.

Um die Genauigkeit der Näherung (2) beurteilen zu können, berechnen wir ihren mittleren Fehler μ. Da das mittlere Fehlerquadrat einer Summe gleich der Summe der mittleren Fehlerquadrate der Glieder ist und da weiter der mittlere Fehler einer gemessenen Häufigkeit h nach der Wahrscheinlichkeitsrechnung $\sqrt{\frac{p\,(1-p)}{n}}$ beträgt, so ergibt sich

$$(3)\qquad \mu^2 = \frac{1}{4}\left\{\frac{p_1\,(1-p_1)}{n_1}(x_2 - x_0)^2 + \right.$$
$$\left. - \frac{p_2\,(1-p_2)}{n_2}(x_3 - x_1)^2 + \cdots + \frac{p_s\,(1-p_s)}{n_s}(x_{s+1} - x_{s-1})^2\right\}.$$

Wiederum sind die exakten Werte $p_1, p_2, \ldots, p_s$ unbekannt. Würde man aber die $p\,(1-p)$ wie oben durch $h\,(1-h)$ ersetzen, so würde man im Mittel einen zu kleinen Wert erhalten. Am deutlichsten sieht man das im Falle $n = 1$, wo $h\,(1-h)$ immer Null ist. Berechnet man allgemein den Mittelwert von $h\,(1-h)$, so ergibt sich

$$\begin{aligned} h\,(1-h) = h - h^2 &= p - \overline{(h-p)^2 - 2hp + p^2} \\ &= p - (h-p)^2 - 2\bar{h}p + p^2 \\ &= p - \frac{p\,(1-p)}{n} - 2p^2 + p^2 \\ &= p\,(1-p) - \frac{p\,(1-p)}{n} = (n-1)\,\frac{p\,(1-p)}{n}. \end{aligned}$$

Daher ist der Mittelwert von

$$(4)\qquad m^2 = \frac{1}{4}\left\{\frac{h_1\,(1-h_1)}{n_1 - 1}(x_2 - x_0)^2 + \right.$$
$$\left. + \frac{h_2\,(1-h_2)}{n_2 - 1}(x_3 - x_1)^2 + \cdots + \frac{h_s\,(1-h_s)}{n_s - 1}(x_{s+1} - x_{s-1})^2\right\}$$

genau gleich μ^2. Sind die n_j nicht zu klein, so kann man m^2 als Näherungswert für μ^2 benutzen.

Beispiel 1. Chen, Anderson und Robbins[6] beobachteten für salzsaures Gelsemicin bei je 10 roten Kaninchen folgende Sterbequotienten:

Dosis	6	7	8	9	10	11	12	13
Gestorben	0/10	1/10	3/10	6/10	8/10	5/10	9/10	10/10

In den Formeln (2) und (4) kann man, da $h_s = 1$ ist, ruhig $x_{s+1} = x_s$ wählen. Die Differenzen $x_{j+1} - x_{j-1}$ mögen jetzt mit d_x bezeichnet werden. Die Berechnung von L und m verläuft nun folgendermaßen:

[6] Chen, Anderson u. Robbins: Quart. J. Pharmacy a. Pharmacol. **11**, 84 (1938).

Dosis	x	d_x	h	$d_x \cdot h$	d_x^2	$h\,(1-h)$	$d_x^2\,h\,(1-h)$	L und m
6	0,778		0,0			0		$\frac{x_s + x_{s+1}}{2} = 1{,}114$
7	0,845	0,125	0,1	0,012	0,0156	0,09	0,00141	
8	0,903	0,109	0,3	0,033	0,0119	0,21	250	$-\frac{1}{2}\cdot 0{,}314 = -0{,}157$
9	0,954	0,097	0,6	0,058	0,0094	0,24	226	
10	1,000	0,087	0,8	0,070	0,0076	0,16	121	$L = 0{,}957$
11	1,041	0,079	0,5	0,040	0,0062	0,25	156	
12	1,079	0,073	0,9	0,066	0,0053	0,09	048	$m^2 = \frac{0{,}009\,42}{4 \cdot 9}$
13	1,114	0,035	1,0	0,035		0	0,00942	$= 0{,}000\,262$
				0,314				$m = 0{,}0162$

Ergebnis: $M = 0{,}957 \pm 0{,}0162$.

Bliss[7] fand aus demselben experimentellen Material mit einer anderen Methode, die viel mehr Rechnung erfordert:

$$M = 0{,}961 \pm 0{,}0166.$$

Man sieht hier schon, daß die Flächenmethode den raffinierteren englischen Rechenverfahren an Genauigkeit nicht nachsteht. Wir kommen darauf in § 4 zurück.

Sind alle Differenzen $x_{j+1} - x_j$ konstant $= \delta$ und sind alle $n_j = n$, so geht (3) in die von Gaddum[8] schon angegebene Formel

$$\mu^2 = \sum \frac{p\,(1-p)}{n}\,\delta^2 = \Big(\sum p\,(1-p)\,\frac{\delta}{\sigma}\Big)\frac{\delta\,\sigma}{n}$$

über. Gaddum hat die Summe in der Klammer für verschiedene Werte von δ/σ unter der Annahme einer normalen Wirkungskurve aus den Tafeln des Wahrscheinlichkeitsintegrals berechnet und stets den Wert 0,564 gefunden. Denselben Wert findet man auch, indem man die Summe genähert durch das Integral

$$\int_{-\infty}^{\infty} p\,(1-p)\,\frac{d\,x}{\sigma} = \frac{1}{\sqrt{\pi}} = 0{,}564\ldots$$

ersetzt. Somit können wir, wenn σ bekannt ist, den mittleren Fehler der Flächenmethode im Fall konstanter Differenzen und konstanter Tierzahlen nach der Formel

$$\mu^2 = 0{,}564\,\frac{\delta\,\sigma}{n} \tag{5}$$

berechnen, die auch für kleine n richtig ist[9].

---

[7] Bliss, C. I.: Quart. J. Pharmacy a. Pharmacol. **11**, 202 (1938·) — [8] Gaddum, J. H.: Med. Res. Counsil Reports on Biol. Standards III, 27 (1833). — [9] Warum Gaddum das l. c. bezweifelt, ist mir unklar.

3. Berechnung der Streuung σ.

Es fragt sich nun, wie man σ praktisch berechnet. Nach dem Vorbild von Trevan[10] verfahren wir dabei folgendermaßen. Die Streuung der tödlichen Dosis kann (auch wenn die Wirkungskurve nicht normal sein sollte) durch

$$\sigma^2 = \int_0^1 (x - M)^2 \, dp$$

definiert werden. Ersetzt man das Integral durch eine Summe

$$\sum \left(\frac{x_j + x_{j+1}}{2} - M\right)^2 (p_{j+1} - p_j),$$

so muß man das bekannte Sheppardsche Korrekturglied $\delta^2/12$ abziehen:

$$\sigma^2 = \sum \left(\frac{x_j + x_{j+1}}{2} - M\right)^2 (p_{j+1} - p_j) - \frac{\delta^2}{12}. \tag{6}$$

Um einen brauchbaren Näherungswert zu erhalten, ersetze man wieder die unbekannten Wahrscheinlichkeiten p durch die beobachteten Häufigkeiten h. So erhält man eine Größe s^2, deren Mittelwert gleich σ^2 ist.

Es ist nun aber nicht erlaubt, das M in (6) ohne weiteres durch den Näherungswert L zu ersetzen, wie es Trevan[10] tut. Durch diese Ersetzung wird die Summe nämlich um $(L - M)^2$ verkleinert. Der Mittelwert von $(L - M)^2$ ist μ^2. Also muß man entweder

$$s^2 = \sum \left(\frac{x_j + x_{j+1}}{2} - L\right)^2 (h_{j+1} - h_j) + \mu^2 - \frac{\delta^2}{12} \tag{7a}$$

oder

$$s^2 = \sum \left(\frac{x_j + x_{j+1}}{2} - L\right)^2 (h_{j+1} - h_j) + m^2 - \frac{\delta^2}{12} \tag{7b}$$

setzen, damit der Mittelwert von s^2 genau σ^2 ist.

Die Formel (7b) ist immer anwendbar, erfordert aber die Berechnung von m^2. Die Formel (7a) kann nur dann angewandt werden, wenn μ^2 ungefähr bekannt ist. Man kann z. B. auf Grund eines geschätzten Wertes von σ zunächst μ^2 nach (5) berechnen, dann s^2 nach (7a). Weicht das so ermittelte s stark vom vorläufig angenommenen Wert von σ ab, so kann man das Verfahren noch einmal wiederholen, indem man den verbesserten Wert s statt des vorläufigen σ in (5) einsetzt.

Bei der praktischen Rechnung nach (7a) empfiehlt es sich, die Grundformel (2) folgendermaßen umzuformen:

$$L = \sum_0^s \frac{x_j + x_{j+1}}{2} (h_{j+1} - h_j). \tag{8}$$

[10] Bei Gaddum, l. c. 27.

Zur Kontrolle des nach (7a) berechneten s^2 kann man noch folgende gleichwertige Formel benutzen:

$$(9) \qquad s^2 = \sum_0^s \left(\frac{x_j + x_{j+1}}{2}\right)^2 (h_{j+1} - h_j) - L^2 + \mu^2 - \frac{\delta^2}{12}.$$

Beispiel 2. Prigge[1] fand bei einem hochaktiven Diphtherie-Alaun-Impfstoff die folgende Schutzwirkung (Anzahl der geschützten Tiere durch Anzahl der Versuchstiere):

Dosis	0,004	0,01	0,02	0,04	0,1	0,2	0,4 ccm
Geschützt	0/24	0/23	3/24	12/25	23/24	24/25	24/24

Die von Prigge und Schäfer[11] vorgenommene graphische Auswertung zeigt, daß die beobachteten Daten gut zu einer normalen Wirkungskurve mit $\sigma = 0{,}33$ passen. Man könnte m^2 nach (4) ausrechnen und (7b) anwenden, aber eine grobe Überschlagsrechnung nach (5) führt schneller zum Ziel. Zwar ist (5), strenggenommen, nicht anwendbar, da weder n noch δ genau konstant sind, aber δ beträgt durchschnittlich 0,33 und n etwa 24; somit wäre μ^2 ungefähr gleich 0,0026. Da es sich nur um ein kleines Korrekturglied in (7a) handelt, genügt das.

Ausrechnung von L und s^2 nach (7a) und (8) mit Kontrolle durch (9) ergibt:

$$L = \log \mathrm{DL}\,50 = 0{,}621 - 2, \quad \text{also} \quad \mathrm{DL}\,50 = 0{,}0417 \text{ ccm};$$
$$s^2 = 0{,}0748, \quad \text{also} \quad s = 0{,}274.$$

Man könnte nun mit diesem verbesserten s-Wert von neuem μ^2 ausrechnen. Es ist aber nicht gesagt, daß der neue s-Wert besser ist als der alte. Gleichzeitig mit dem Alaun-Impfstoff wurde nämlich von Prigge ein Standardimpfstoff untersucht, für den sich nach der „Zweipunktmethode" (vgl. § 3) $s = 0{,}39$ ergibt. Das gewogene Mittel aus den beiden s-Werten beträgt etwa 0,31, in guter Übereinstimmung mit dem von Prigge und Schäfer graphisch ermittelten Wert $s = 0{,}33$. Aus der Annahme $\sigma = 0{,}31$ findet man weiter nach (5) $\mu^2 = 0{,}0024$, also $\mu = 0{,}05$. Somit wäre das Ergebnis der Auswertung:

$$M = \log \mathrm{DL}\,50 = 0{,}62 \pm 0{,}05.$$

Beispiel 3. R. Prigge hat mit einer Reihe von Endotoxinpräparaten Reihenversuche durchgeführt, bei denen nur 2 oder 4 Versuchstiere je Dosis verwendet wurden. Die Dosen wurden immer der Reihe 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 entnommen. Die Frage, wie diese Versuchsreihen auszuwerten seien, war der Anlaß zur vorliegenden Untersuchung.

Bei so kleinen Tierzahlen ist von allen bekannten Auswertungsmethoden nur die Flächenmethode durchführbar. 16 Versuchsreihen mit 2 Tieren je Dosis und 8 Versuchsreihen mit 4 Tieren je Dosis waren zur

[11] Prigge, R., u. W. Schäfer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 303 (1939).

Anwendung der Flächenmethode geeignet, da sie nach beiden Seiten genügend weit fortgesetzt erschienen[12]. Für alle diese Reihen wurden L und s^2 nach (8) und (9) berechnet. Die für s^2 gefundenen Zahlen waren:

2 Tiere je Dosis				4 Tiere je Dosis	
0,271	0,066	0,044	0,044	0,041	0,360
0,066	0,294	0,744	0,666	0,361	0,504
0,129	0,294	0,167	0,075	0,272	0,360
0,044	0,075	0,500	0,075	0,571	0,252

Ich habe nun σ^2 durch Mittelung aus allen diesen s^2-Werten berechnet. Da die ersten 16 Werte ein doppelt so großes mittleres Fehlerquadrat haben als die letzten 8, so ist den letzteren das doppelte Gewicht beizulegen[13]. Es ergab sich

$$\sigma^2 = 0{,}281 \pm 0{,}042,$$
$$\sigma = 0{,}530 \pm 0{,}040.$$

Dabei wurde der mittlere Fehler von σ^2 (also 0,042) empirisch aus der Streuung der 24 Einzelwerte ermittelt.

4. Der Fall ungleicher Tierzahlen.

In den bisherigen Beispielen waren die n_j alle untereinander gleich. Es ist aber nicht nötig und nicht einmal günstig, n konstant zu machen. Untersuchen wir doch einmal, wie man bei gegebener Gesamttierzahl die n wählen muß, damit die Genauigkeit der Flächenmethode am größten wird!

Wir nehmen an, daß die Dosenlogarithmen $x_0, x_1, \ldots, x_s, x_{s+1}$ eine arithmetische Reihe mit der Differenz δ bilden. Dann wird nach (3)

$$\mu^2 = \delta^2 \sum \frac{p\,(1-p)}{n}. \tag{10}$$

Bei gegebenem $N = \Sigma n$ wird die Summe (10) am kleinsten, wenn die n proportional zu $\sqrt{p\,(1-p)}$ sind:

$$n = c\sqrt{p\,(1-p)}.$$

In diesem Fall wird

$$\mu^2 = \frac{\delta^2}{c} \Sigma \sqrt{p\,(1-p)},$$

$$N = c\,\Sigma \sqrt{p\,(1-p)},$$

[12] „Genügend weit fortgesetzt" heißt eine Reihe dann, wenn man annehmen kann, daß der nächstgrößeren Dosis eine Mortalität nahe bei 100%, der nächstkleineren eine Mortalität nahe bei 0% entspricht. Das Urteil darüber ist unvermeidlich subjektiv; jedoch wurden in diesem Fall bei der Auswahl der „genügend langen" Versuchsreihen objektive Kriterien angewandt, die jede Willkür ausschließen. — [13] Der mittlere Fehler von s^2 ist nämlich, wie aus (7b) leicht folgt, umgekehrt proportinal zu $\sqrt{n}$.

also

$$N\mu^2 = \delta^2 \left(\Sigma \sqrt{p(1-p)}\right)^2,$$

$$\mu = \frac{\delta \Sigma \sqrt{p(1-p)}}{\sqrt{N}}.$$

Der Zähler kann wieder genähert durch ein Integral $\int \sqrt{p(1-p)}\, dx$ ersetzt werden, das (nach einer numerischen Integration) den Wert $1{,}62\,\sigma$ hat. Somit ergibt sich

$$\mu = 1{,}62 \frac{\sigma}{\sqrt{N}}. \tag{11}$$

Für die Praxis bedeutet das: Die Genauigkeit der Flächenmethode wird dann am größten, wenn die Tierzahlen n ungefähr proportional zu $\sqrt{p(1-p)}$ gewählt werden, also in der Nähe der 50%-Dosis größer als für die weiter entfernten Dosen. Nachdem man also durch einen Vorversuch (mit 1 bis 2 Tieren je Dosis) die ungefähre Lage von $\xi = \log \mathrm{DL}\ 50$ festgestellt hat, erhöhe man die Tierzahlen in der Nähe dieser Dosis solange, bis die gewünschte Genauigkeit erreicht ist.

Die Tafel am Schluß dieser Arbeit gibt in Spalte 4 die Werte $\sqrt{p(1-p)}$, zu denen die günstigsten Tierzahlen n proportional sind. Die Tafel zeigt, daß die günstigsten Tierzahlen maximal sind zwischen $\xi - \sigma$ und $\xi + \sigma$, etwa halb so groß zwischen $\xi \pm \sigma$ und $\xi \pm 2\sigma$ und wieder dreimal kleiner zwischen $\xi \pm 2\sigma$ und $\xi \pm 3\sigma$. Der mittlere Fehler μ ist im günstigsten Fall durch (11) gegeben.

Durch die geschilderte Versuchsanordnung wird der von Gaddum (l. c. S. 28) gegen die Flächenmethode erhobene Einwand der Tierverschwendung entkräftet.

5. Der mittlere Fehler μ bei nicht konstanten Tierzahlen.

Zur Berechnung von μ^2 hatten wir bisher nur die Formel (4), die nur für große n_j genügend genau ist, und für besondere Fälle noch die Formeln (5) und (11). In allen anderen Fällen ist man auf die allgemeine Formel (3) angewiesen, in der die Wahrscheinlichkeiten $p_1, \ldots, p_s$ unbekannt sind. Wird aber die Wirkungskurve als normal angenommen und sind ξ und σ bekannt, so kann man $p_1, \ldots, p_s$ berechnen und in (3) einsetzen. Für ξ kann man immer die Näherung L [Formel (2) oder (8)] benutzen. Ist nun auch eine gute Näherung s von σ bekannt, so kann man zu jedem Dosenlogarithmus x die Größe

$$y = \frac{x - L}{s}$$

berechnen, daraus p nach Spalte 3 der Tafel am Schluß dieser Arbeit, schließlich μ^2 nach (3). Das Verfahren ist allerdings etwas mühsam; daher wird man in der Praxis häufig die weniger genaue Rechnung nach (4), (5) oder (11) vorziehen.

§ 3. Die Bestimmung der Wirkungsgeraden durch einen, zwei oder mehr Punkte.

Die in diesem Paragraphen zu besprechenden Methoden setzen alle voraus, daß die Wirkungskurve normal ist, d. h. daß sie, auf logarithmisches Wahrscheinlichkeitspapier gezeichnet, eine Gerade ergibt. Sie sind außerdem nur dann anwendbar, wenn die Tierzahlen $n_1, n_2, \ldots, n_s$ groß sind. Die Anzahl s der verschiedenen Dosen braucht dagegen nicht groß zu sein: unter Umständen genügen eine oder zwei Dosen.

Geht man darauf aus, die Wirkungsgerade rechnerisch oder graphisch zu bestimmen, so bietet sich folgende Überlegung dar. Die empirischen Häufigkeiten $h_1, \ldots, h_s$ unterscheiden sich bei großen $n_1, \ldots, n_s$ nicht sehr von den wahren Mortalitäten $p_1, \ldots, p_s$. Transformiert man nun die p-Skala nach § 1 durch Einführung der y, sie nach einem bestimmten Gesetz

$$p = W(y)$$

mit den p zusammenhängen, so kann man die Häufigkeiten h ebenso transformieren:

$$h = W(y').$$

Die Spalten 2 und 3 unserer Tafel gestatten sofort die Berechnung von y' zu gegebenem h. Bei Benutzung des logarithmischen Wahrscheinlichkeitspapiers braucht man die y' gar nicht erst zu berechnen, da die transformierte Skala der Papiereinteilung bereits zugrunde liegt: man trägt direkt zu jeder Dosis die beobachtete Häufigkeit h auf und hat dann jeweils einen Punkt mit den Koordinaten (x, y'). Die so gewonnenen Punkte nennen wir die Beobachtungspunkte.

Wenn nun die h sich von den p nur wenig unterscheiden, so werden die y' sich auch nur wenig von den y unterscheiden, außer wenn p nahe an 0 oder 100% liegt, da dann eine kleine Änderung von p nach Abb. 3 eine starke Änderung von y zur Folge hat[14]. Da die Punkte (x, y) auf der Wirkungsgeraden liegen und die y' sich nur wenig von den y unterscheiden, muß die Wirkungsgerade nahe bei den Beobachtungspunkten (x, y') vorbeigehen.

Aus diesem Grundgedanken ergeben sich in verschiedenen Fällen folgende Verfahren:

1. Die Einpunktmethode.

Ist die Streuung σ und damit auch die Steigung der Wirkungsgeraden bekannt, so braucht man zu ihrer Bestimmung nur einen Punkt (x, y) zu kennen. Da man y nicht genau kennt, legt man die Gerade durch den Beobachtungspunkt (x, y'). Man kann dabei entweder graphisch vorgehen,

[14] In der Praxis wird man die Forderung, daß p nicht zu nahe bei 0 oder 100% liegen soll, dadurch erfüllen, daß man nur solche Beobachtungen heranzieht, bei denen k und $\bar{k}$ beide nicht zu klein (etwa beide größer als 1 oder 2) sind.

indem man die Gerade auf dem logarithmischen Wahrscheinlichkeitspapier durch den gegebenen Punkt mit der gegebenen Steigung einfach zieht, oder rechnerisch nach der Formel

$$x - \xi = \sigma y$$

oder

$$\xi = x - \sigma y.$$

Da y' ein Näherungswert für y ist, ergibt sich für ξ der Näherungswert

$$\xi' = x - \sigma y'. \tag{12}$$

Ist σ genau bekannt, so ist der mittlere Fehler von ξ' gleich $\sigma \mu_y$, wo μ_y der mittlere Fehler von y' ist. Dieser ist, solange p nicht nahe bei Null oder Eins liegt, nach Gaddum durch

$$n \mu_y^2 = 2 \pi p (1 - p) e^{y^2} \tag{13}$$

gegeben. Die Tafel am Schluß dieser Arbeit gibt in ihrer 5. Spalte den Wert der rechten Seite an. Ist aber der für σ angenommene Wert s selber mit einem mittleren Fehler μ_s behaftet, so ist der mittlere Fehler von $\xi' = x - s y'$ durch

$$\mu^2 = \sigma^2 \mu_y^2 + \mu_s^2 (y^2 + \mu_y^2) \tag{14}$$

gegeben[15].

Die Formel (14) zeigt, daß μ^2 dann am kleinsten ist, wenn y nahe bei 0 liegt, also wenn die benutzte Dosis x nahe bei der 50 %-Dosis liegt; denn dann werden alle drei Glieder von (14) möglichst klein. Praktisch wird man demnach so verfahren, daß man für jedes Präparat zunächst durch einen Vorversuch die ungefähre Größe der 50 %-Dosis ermittelt (etwa nach der Flächenmethode) und dann für diese Dosis bei einer größeren Anzahl von Tieren die Sterblichkeit feststellt, falls eine gesteigerte Genauigkeit gewünscht wird.

Zur praktischen Bestimmung des mittleren Fehlers μ wird man, da man den exakten Wert y^2 in (14) nicht kennt, die Größe $y^2 + \mu_y^2$ durch die der Beobachtung entnommene Größe y'^2 ersetzen, deren Mittelwert gerade $y^2 + \mu_y^2$ ist. Weiter wird man den exakten Wert σ^2 durch einen den Beobachtungen entnommenen Näherungswert s^2 ersetzen, der etwa nach

---

[15] Zum Beweis von (14) nehmen wir an, daß für σ und y Näherungswerte s und y' zur Verfügung stehen, deren Mittelwerte gleich σ bzw. y sind. Man hat dann, wenn der Querstrich Mittelwertbildung bedeutet:

$$\xi' = x - s y', \qquad \xi = x - \sigma y,$$

$$\overline{(\xi' - \xi)^2} = \overline{(s y' - \sigma y)^2} = \overline{s^2}\,\overline{y'^2} - 2\sigma^2 y^2 + \sigma^2 y^2$$

$$= (\sigma^2 + \mu_s^2)(y^2 + \mu_y^2) - \sigma^2 y^2 = \sigma^2 \mu_y^2 + \mu_s^2 (y^2 + \mu_y^2).$$

Dabei ist angenommen worden, daß s und y' unabhängig sind, was in der Praxis nicht immer der Fall ist. Auch die Annahmen $\bar{s} = \sigma$ und $\bar{y}' = y$ sind oft nur näherungsweise erfüllt.

§ 2 gefunden werden kann. So erhält man an Stelle von (14) die praktisch brauchbare Näherungsformel

$$m^2 = s^2 \mu_y^2 + \mu_s^2 y'^2, \tag{15}$$

in der μ_y^2 nach (13) zu berechnen ist.

Liegt y nahe bei Null, so ist das zweite Glied in (14) klein gegen das erste. Es macht dann für den Wert von μ nicht viel aus, wenn man das zweite Glied ganz wegläßt und im ersten Glied den Wert von μ_y^2 für $y = 0$ einsetzt. So erhält man die einfache Näherung

$$\mu^2 \sim \frac{\pi}{2} \frac{\sigma^2}{n}; \qquad \mu \sim 1{,}25 \frac{\sigma}{\sqrt{n}}. \tag{16}$$

Beispiel 4. Prigge[16] hat zur Eichung eines bakteriellen Toxins 50 Tiere mit 1.8 mg vergiftet; es starben 18 von ihnen. Bei einem anderen Toxin gleicher Herkunft, aber von anderer Stärke, war die Steigung der Wirkungsgeraden bestimmt worden, mit dem Ergebnis:

$$R = \frac{1}{\sigma} = 0{,}846 \pm 0{,}154 \quad \text{also} \quad \sigma = 1{,}18 \pm 0{,}215.$$

In die Formel (12) hat man einzusetzen:

$x = \log 1{,}8 = 0{,}26$,

$y' = -0{,}36$ (wegen $h = 18/50$ nach der Tabelle, Spalte 1 und 2).

Somit ergibt (12):

$$\xi' = 0{,}26 + 0{,}30 = 0{,}56, \text{ also } \mathrm{DL}\,50 = 3{,}6 \text{ mg}.$$

In die Formel (15) hat man einzusetzen

$\mu_s = 0{,}215$,

$50\,\mu_y^2 = 1{,}65$ nach der Tabelle, Spalte 4.

Somit ergibt (15)

$$m^2 = 0{,}046 + 0{,}006 = 0{,}052, \text{ also } m = 0{,}23,$$

während die ungenauere Formel (16) ergeben würde

$$\mu \sim 0{,}21.$$

Es bestätigt sich also, daß man bei so großen Werten von n statt (15) ruhig die einfachere Formel (16) anwenden kann, sofern nur die beobachtete Häufigkeit nicht allzu stark von 50 % abweicht. Als Ergebnis der Rechnung hat man zu vermerken:

$$\xi = 0{,}56 \pm 0{,}23.$$

---

[16] Prigge, R., u. W. Schäfer, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 297 (1939). Der mittlere Fehler des von Prigge errechneten R wurde nach Formel (6) der zitierten Gaddumschen Abhandlung berechnet. Der mittlere Fehler μ_s ergibt sich daraus nach der Formel $\mu_s = s^2 \mu_R$.

2. Die Zweipunktmethode.

Ist σ nicht bekannt, so braucht man zur Festlegung der Wirkungsgeraden 2 Punkte (x_1, y_1) und (x_2, y_2). Das graphische Verfahren liefert direkt die genäherte Wirkungsgerade als Verbindungsgerade der beiden Beobachtungspunkte (x_1, y_1') und (x_2, y_2'). Will man aber lieber rechnen, so hat man aus den 2 Gleichungen

$$x_1 - \xi = \sigma y_1,$$
$$x_2 - \xi = \sigma y_2$$

die Unbekannten ξ und σ aufzulösen; das ergibt

$$\xi = \frac{x_1 y_2 - x_2 y_1}{y_2 - y_1},$$
$$\sigma = \frac{x_2 - x_1}{y_2 - y_1}.$$

Ersetzt man wieder die y durch die beobachteten y', so erhält man die Näherungswerte

$$\xi' = \frac{x_1 y_2' - x_2 y_1'}{y_2' - y_1'}, \tag{17}$$

$$\sigma' = \frac{x_2 - x_1}{y_2 - y_1}. \tag{18}$$

Die Zweipunktmethode ist bei kleinen Tierzahlen praktisch nicht durchführbar. Denn einerseits müssen y_1 und y_2 weit genug auseinanderliegen, damit der Nenner in (17) nicht Null wird oder zu nahe an Null herankommt; andererseits aber dürfen p_1 und p_2 wieder nicht zu nahe bei 0 oder 100% liegen, damit die genäherte Ersetzung der y durch die y' noch erlaubt ist. Bei kleinen Tierzahlen (bis etwa 15 Tiere je Dosis) sind diese beiden Forderungen überhaupt nicht vereinbar[17]; bei größeren Tierzahlen (etwa 30 Tiere oder mehr je Dosis) sind sie wohl vereinbar, aber sie verlangen, daß y_1 etwa zwischen $-1{,}5$ und -0.5 und y_2 etwa zwischen 0,5 und 1,5 liegt. Außerhalb dieser Grenzen wird die Methode fraglich oder zumindest sehr ungenau. Das heißt also, für die Anwendbarkeit der Methode ist erforderlich, daß man durch Vorversuche die ungefähren Werte von ξ und σ ermittelt, damit man die beiden Dosen so einrichten kann, daß ihre Logarithmen nahe bei $\xi - \sigma$ und $\xi + \sigma$ liegen[18].

---

[17] Die nähere theoretische Ausführung dieser Behauptung kann ich mir ersparen, weil die von Behrens und Kärber mit „Zetteltieren" durchgeführte Untersuchung (Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 637 (1935) sie in schlagender Weise experimentell bestätigt. Von insgesamt 175 Auswertungen mit je zweimal 15 „Tieren" konnten 45 nicht verwertet werden. „Bei der Wahl zu enger Gruppenabstände sind die nicht zu verwertenden Ergebnisse darauf zurückzuführen, daß eine niedere Dosis eine höhere Mortalität als die dazugehörige höhere Dosis ergab, während bei der Wahl der großen Gruppenabstände die nicht zu verwertenden darauf zurückzuführen sind, daß eine Gruppe die Mortalität 100% bzw. 0% aufwies." — [18] Vgl. dazu Punkt 2 der Zusammenfassung von Behrens u. Kärber, l. c.

Wir berechnen nun den mittleren Fehler μ des nach der Zweipunktmethode ermittelten ξ' für große Tierzahlen. Nach bekannten Formeln ist

$$\mu^2 = \left(\frac{\partial \xi'}{\partial y_1'}\right)^2 \mu_{y_1}^2 + \left(\frac{\partial \xi'}{\partial y_2'}\right)^2 \mu_{y_2}^2,$$

wobei nach der Differentiation die y' durch die y zu ersetzen sind. Führt man die Differentiation nach (17) aus, so kommt

$$\mu^2 = \left(\frac{y_2\,\sigma}{y_2 - y_1}\right)^2 \mu_{y_1}^2 + \left(\frac{y_1\,\sigma}{y_2 - y_1}\right)^2 \mu_{y_2}^2. \tag{19}$$

Diese Formel gilt nur unter der Voraussetzung, daß ξ' genähert als lineare Funktion von y_1' und y_2' betrachtet werden kann; dafür ist aber nötig, daß $y_2 - y_1$ nicht zu nahe bei Null liegt. Bei 30—50 Tieren je Dosis muß man etwa $y_2 - y_1 > 1\frac{1}{2}$, also $x_2 - x_1 > 1\frac{1}{2}\,\sigma$ verlangen, bei mehr als 50 Tieren $x_2 - x_1 > \sigma$. Die in (19) vorkommenden μ_y^2 können, sofern p_1 und p_2 nicht zu nahe an 0 oder 100 % herankommen, aus der Tafel am Schluß der Arbeit entnommen werden.

Zur Diskussion des Ausdrucks (19) nehmen wir $n_1 = n_2$ an. Bei gegebenem $y_2 - y_1$ wird μ^2 am kleinsten, wenn y_1 und y_2 entgegengesetzt gleich sind[19]:

$$y_1 = -y, \quad y_2 = y.$$

Der Ausdruck (19) geht dann in

$$\mu^2 = \frac{\sigma^2}{2}\,\mu_y^2$$

über. Der Faktor μ_y^2 ist am kleinsten, wenn y möglichst nahe bei 0 liegt; andererseits darf man aber y wieder nicht zu klein wählen, da dann $y_2 - y_1$ zu klein wird. Bei mäßig großem n wähle man etwa $y = 1$; bei sehr großem n kann man y sogar noch etwas kleiner wählen. Bei $y = 1$ ist $x_1 = \xi - \sigma$ und $x_2 = \xi + \sigma$, weiter nach der Tabelle $n\,\mu_y^2 = 1{,}51$, also

$$\mu^2 = 2{,}28\,\frac{\sigma^2}{2\,n}.$$

Setzt man $N = n_1 + n_2 = 2\,n$, so folgt

$$\mu = 1{,}51\,\frac{\sigma}{N}. \tag{20}$$

Genähert gilt diese Formel auch dann noch, wenn n_1 und n_2 nicht genau gleich und x_1 und x_2 nicht genau gleich $\xi \pm \sigma$ sind; denn in der Nähe ihres Minimums ändert sich eine Funktion bekanntlich nur wenig. Um eine Näherungsformel handelt es sich auf alle Fälle, da die Herleitung von (19) bereits auf einer Näherung beruht. Für $N > 100$ dürfte die Näherung gut stimmen, während für $N < 100$ das wahre μ etwas größer ist.

Vergleicht man den eben hergeleiteten mittleren Fehler der Zweipunktmethode mit dem der Einpunkt- und der Flächenmethode, so kommt man zu dem folgenden Ergebnis:

[19] Bei ungleichen n_1 und n_2 erhält man statt der Bedingung $y_1 = -y_2$ die andere $n_1 y_1 + n_2 y_2 = 0$, wenigstens solange y_1 und y_2 klein sind.

Wenn ξ und σ von vornherein ungefähr bekannt sind und nicht zu stark schwanken, so ist die Einpunktmethode den anderen vorzuziehen. Sind diese Voraussetzungen nicht erfüllt, so hat man die Wahl zwischen der Flächenmethode und der Zweipunktmethode. Stehen insgesamt etwa $N = 100$ Tiere zur Verfügung, so sind beide Methoden bei optimaler Anwendung[20] ungefähr gleich genau. Bei weniger als 100 Tieren (insgesamt) ist die Flächenmethode, bei mehr die Zweipunktmethode vorzuziehen, sofern die Wirkungskurve normal ist.

Genau ebenso wie den mittleren Fehler von ξ' nach (17) kann man auch den von σ' aus (18) berechnen; man findet

$$\mu_\sigma = \frac{\sigma^2}{x_2 - x_1} \sqrt{\mu_{y_1}^2 + \mu_{y_2}^2}. \tag{21}$$

Beispiel 5. Der Priggesche Alaunimpfstoff (vgl. Beispiel 2) sollte mit einem Standardimpfstoff verglichen werden. Die beobachteten Erfolgszahlen beim Standardimpfstoff waren die folgenden:

Dosis.....	0,5 ccm	2 ccm
Geschützt.....	3/24	15/23

Die Tafeln ergeben

$$\begin{aligned} x_1 &= -0{,}301, & x_2 &= 0{,}301, \\ h_1 &= 12{,}5\,\%, & h_2 &= 65{,}2\,\%, \\ y_1' &= -1{,}150, & y_2' &= 0{,}391, \\ 24\,\mu_{y_1}^2 &= 2{,}59, & 23\,\mu_{y_2}^2 &= 1{,}66. \end{aligned}$$

Die Formeln (17), (18) und (19) ergeben

$$\begin{aligned} \xi' &= 0{,}148, \\ \sigma' &= 0{,}39, \\ \mu &= 0{,}067. \end{aligned}$$

Der Wert $\sigma' = 0{,}39$ wurde oben (Beispiel 2) bereits benutzt. Das Ergebnis der Auswertung nach der Zweipunktmethode ist also

$$\xi = 0{,}15 \pm 0{,}067.$$

Für den mittleren Fehler von σ' findet man nach (21) 0,07. Der genauere Wert $s = 0{,}31$, der oben (Beispiel 2) durch Mittelung aus 0,39 und dem wesentlich genaueren Wert 0,27 gefunden wurde, hat sicherlich einen erheblich kleineren mittleren Fehler; eine rohe Schätzung dieses mittleren Fehlers ergab 0,04. Also:

$$\sigma = 0{,}31 \pm 0{,}04.$$

[20] „Optimale Anwendung" heißt bei der Flächenmethode: Tierzahlen ungefähr proportional zu $\sqrt{p\,(1-p)}$; bei der Zweipunktmethode: Dosen etwa gleich $\xi \pm \sigma$.

3. Die Mehrpunktmethoden.

Hat man mehr als 2 Beobachtungspunkte, so kann man erstens graphisch vorgehen, indem man die Wirkungskurve auf Wahrscheinlichkeitspapier so zeichnet, daß sie möglichst nahe bei den Beobachtungspunkten vorbeigeht. Wie man dabei die verschiedenen Gewichte dieser Punkte mit Hilfe der Priggeschen „Mutungsgrenzen" graphisch berücksichtigt und so auch die Ergebnisse mit $h = 0$ und $h = 1$ mit heranziehen kann, haben Prigge und Schäfer l. c. angegeben und mit Beispielen erläutert.

Man kann aber auch rechnerisch nach der bekannten Methode der Regressionslinien („Methode der kleinsten Quadrate") vorgehen; Urban[21] und Gaddum[22] haben das näher ausgeführt. Die Hauptschwierigkeit ist dabei die Bestimmung der Gewichte, die den mittleren Fehlerquadraten der beobachteten y' umgekehrt proportional, also Funktionen von p sind. Gaddum ersetzt hier die p einfach durch die beobachteten h, was nur in der Nähe von 50% zulässig ist.

Bliss[23] hat vorgeschlagen, lieber aus einer graphisch bestimmten vorläufigen Wirkungskurve die p-Werte zu ermitteln und mit ihrer Hilfe die Gewichte zu bestimmen. R. A. Fisher hat in einem Anhang dazu ein geistreiches Verfahren angegeben, das es gestattet, auch die Fälle $h = 0$ und $h = 1$ zu berücksichtigen. Es beruht auf der „Method of Maximum Likelihood", von der die Methode der kleinsten Quadrate nur die erste Approximation darstellt.

Alle diese Methoden erfordern sehr viel Rechnung, die sich, wie wir in § 4 sehen werden, nicht durch erhöhte Genauigkeit belohnt macht. Wenn das vorliegende Beobachtungsmaterial einmal so beschaffen ist, daß man weder die Flächenmethode, noch die Ein- oder Zweipunktmethode anwenden kann und wenn man sich mit einer graphischen Bestimmung der Wirkungskurve nicht begnügen will, so wird man notgedrungen zu den Mehrpunktmethoden greifen. Hat man aber die Einrichtung des Experiments selbst noch in der Hand, so wird man zweckmäßig so verfahren, daß eine dieser drei Rechenmethoden anwendbar wird.

§ 4. Die Maximalmethode (Method of Maximal Likelihood).

Um die „efficiency" einer Auswertungsmethode zu beurteilen, vergleicht man sie nach R. A. Fisher mit der Maximalmethode, die unter allen Auswertungsmethoden den kleinsten mittleren Fehler besitzt. Die Maximalmethode ist auf die verschiedensten statistischen Auswertungsprobleme anwendbar; sie erfordert aber in unserem Falle unverhältnismäßig mehr Rechnung als die anderen besprochenen Verfahren. Sie setzt

[21] Urban, F. M.: Arch. Psych. **15**, 261 (1909); **16**, 168 (1910). — [22] Gaddum, J. H.: Med. Research. Counsil Reports on Biol. Standards III, Methods of Biological Assay depending on a Quantal Response (London 1933). — [23] Bliss, C. I.: Ann. Appl. Biol. **22**, 134 (1934).

wieder eine normale Wirkungskurve voraus; die Dosen $x_1, x_2 \ldots, x_s$ und die Tierzahlen $n_1, n_2, \ldots, n_s$ sind jetzt ganz beliebig.

Das Problem ist, die Konstanten ξ, σ der Wirkungskurve

$$p = W(y) = W\left(\frac{x-\xi}{\sigma}\right)$$

so zu bestimmen, daß eine möglichst gute Übereinstimmung der gefundenen Häufigkeiten $h_1, \ldots, h_m$ mit ihren Erwartungswerten $p_1, \ldots, p_m$ erreicht wird. Nach R. A. Fisher[24] berechnet man zu dem Zweck die Wahrscheinlichkeit dafür, daß die beobachteten Anzahlen $k_1, \ldots, k_s$ und $\tilde{k}_1, \ldots, \tilde{k}_m$ durch Zufall entstehen. Der Logarithmus dieser Wahrscheinlichkeit ist bis auf additive Glieder, die nicht interessieren, durch

$$\Lambda = \Sigma k \ln p + \Sigma \tilde{k} \ln (1-p)$$

gegeben. Λ ist eine Funktion der unbekannten Konstanten ξ und σ. Nun besteht die Maximalmethode darin, daß man $\xi = \dot{\xi}$ und $\sigma = \dot{\sigma}$ so bestimmt, daß Λ zum Maximum wird. Indem man also die Ableitungen von Λ nach ξ und nach σ Null setzt, erhält man die Bedingungen

$$\sigma \frac{\partial \Lambda}{\partial \xi} = -\Sigma k \psi(y) + \Sigma \tilde{k} \psi(-y) = 0, \tag{22}$$

$$\sigma \frac{\partial \Lambda}{\partial \sigma} = -\Sigma k y \psi(y) + \Sigma \tilde{k} y \psi(-y) = 0, \tag{23}$$

wobei

$$\psi(y) = \frac{d}{dy} \ln W(y) = \frac{W'(y)}{W(y)}$$

gesetzt wurde.

Die Funktionen $\psi(y)$ und $y\psi(y)$ sind aus der Tafel am Schluß dieser Arbeit zu entnehmen. Setzen wir zur Abkürzung

$$\frac{x}{\sigma} = t, \qquad \frac{\xi}{\sigma} = \tau, \tag{24}$$

so wird $y = t - \tau$, also kann man die Gleichungen (22) und (23) auch so schreiben:

$$\Lambda' = \frac{\partial \Lambda}{\partial \tau} = -\Sigma k \psi(t-\tau) + \Sigma \tilde{k} \psi(\tau - t) = 0 \tag{25}$$

$$-\Sigma k (t-\tau) \psi(t-\tau) - \Sigma \tilde{k} (\tau - t) \psi(\tau - t) = 0. \tag{26}$$

Setzt man $\psi(t-\tau) = \psi$ und $\psi(\tau - t) = \tilde{\psi}$, so kann man für (25) auch schreiben:

$$\Lambda' = -\Sigma k \psi + \Sigma \tilde{k} \tilde{\psi} = 0.$$

Nimmt man zuerst für σ einen plausiblen Näherungswert, so findet man aus (24) die zu den verschiedenen Dosenlogarithmen x gehörigen t und kann

[24] Fisher, R. A.: Proc. Cambridge philos. Soc., Biol. Sci **22**, 700 (1924); vgl. auch R. A. Fisher: Statistical Methods for Research Workers.

dann durch Probieren ein τ finden, das die Gleichung (25) befriedigt. Dabei kommt der Umstand zu Hilfe, daß Λ' näherungsweise eine lineare Funktion von τ ist. Sind also τ_1 und τ_2 zwei Näherungswerte, die den richtigen Wert τ zwischen sich einschließen, so kann man den richtigen Wert τ durch lineare Interpolation finden:

$$\tau = \tau_1 - \frac{\tau_2 - \tau_1}{\Lambda'(\tau_2) - \Lambda'(\tau_1)} \Lambda'(\tau_1). \tag{27}$$

Aus dem so gefundenen τ ergibt sich nach (24) das gesuchte $\hat{\xi} = \tau\sigma$. Glücklicherweise ist dieses $\hat{\xi}$ in den meisten Fällen nicht sehr stark von dem angenommenen σ-Wert abhängig. Hat man einmal $\hat{\xi}$, so kann man in derselben Weise durch Probieren $\sigma = \hat{\sigma}$ so bestimmen, daß auch (26) erfüllt wird.

Beispiel 6. Bei einem seiner Endotoxinpräparate (vgl. Beispiel 3), nämlich dem festen 1131 A*, fand Prigge die folgenden Sterbequotienten:

Dosis	500	200	100	50	20	10	5	2	1
Gestorben	3/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4

Die Flächenmethode ist hier nicht anwendbar, da die Dosenreihe nach oben nicht weit genug fortgesetzt ist. Die Anwendung der Maximalmethode wird dadurch erleichtert, daß σ bereits recht gut bekannt ist (vgl. Beispiel 3). Der bequemen Rechnung halber nehmen wir $\sigma = 0{,}5$ (statt 0,53) an. Um (25) zu lösen, habe ich zuerst $\tau_1 = 5{,}1$ versucht; da die linke Seite Λ' positiv ausfiel, war τ_1 zu klein. Sodann wurde $\tau_2 = 5{,}3$ versucht. Die Rechnung verläuft folgendermaßen ($x = \log$ Dosis, $\tau = 2\,x$):

Dosis	x	t	k	$\tilde{k}$	$t - 5{,}1$	$k\psi$	$\tilde{k}\tilde{\psi}$	$t - 5{,}3$	$k\psi$	$\tilde{k}\tilde{\psi}$
500	2,7	5,4	3	1	0,3	1,85	1,00	0,1	2,21	0,86
200	2,3	4,6	1	3	− 0,5	1,14	1,53	− 0,7	1,29	1,24
100	2,0	4,0	0	4	− 1,1	2,99	1,01	− 1,3	3,50	0,76
50	1,7	3,4	0	4	− 1,7		0,39	− 1,9		0,27
20	1,3	2,6	0	4	− 2,5		0,07	− 2,7		0,04
10	1,0	2,0	0	4	− 3,1		0,01	− 3,3		0,01
5	0,7	1,4	0	4	− 3,7		4,01			3,18

Somit wird

$$\Lambda'(t_1) = -2{,}99 + 4{,}01 = 1{,}02,$$
$$\Lambda'(t_2) = -3{,}50 + 3{,}18 = -0{,}32,$$

also nach (27)

$$\tau = 5{,}1 + \frac{0{,}2}{1{,}34} \cdot 1{,}02 = 5{,}252,$$

$$\hat{\xi} = \sigma\tau = 0{,}5\,\tau = 2{,}626.$$

Der mittlere Fehler $\hat{\mu}$ von $\hat{\xi}$ ist nach Fisher genähert durch

$$\frac{\partial^2 \Lambda}{\partial \xi^2} = -\frac{1}{\hat{\mu}^2}$$

oder

$$\frac{\partial^2 \Lambda'}{\partial \tau^2} = \frac{\partial \Lambda'}{\partial \tau} = -\frac{\sigma^2}{\hat{\mu}^2} \tag{28}$$

gegeben. Da Λ' genähert eine lineare Funktion von τ ist, kann man den Differentialquotienten $\partial \Lambda' \partial \tau$ durch den Differenzenquotienten

$$\frac{\Lambda'(\tau_2) - \Lambda'(\tau_1)}{\tau_2 - \tau_1} = -\frac{1{,}34}{0{,}2}$$

ersetzen. Demnach wird

$$\frac{\hat{\mu}^2}{\sigma^2} = \frac{0{,}2}{1{,}34} = 0{,}149,$$

$$\hat{\mu} = \sigma \sqrt{0{,}149} = 0{,}193.$$

Ergebnis demnach:

$$\xi = 2{,}63 \pm 0{,}19.$$

In diesem Beispiel war σ von vornherein bekannt, was die Rechnung sehr erleichterte. Ist σ nicht bekannt, so wird das Verfahren äußerst mühsam; man hat sich daher nach brauchbaren Näherungsmethoden umgesehen.

Sind die k und $\tilde{k}$ nicht zu klein, so ist

$$\Lambda \sim C - \sum \frac{(pn-k)^2 n}{2k\tilde{k}} = C - \sum \frac{(p-h)^2 n}{2h(1-h)}$$

eine gute Näherung für Λ, und die Maximalmethode geht in die Methode der kleinsten Quadrate über (vgl. Gaddum, l. c. S. 41). Wie man die Näherung verbessern kann für den Fall, daß einige k oder $\tilde{k}$ Null sind oder nahe bei Null liegen, hat Bliss nach R. A. Fisher angegeben (vgl. § 3).

Wir vergleichen nun die Genauigkeit der in § 2 und 3 angegebenen Methoden mit der der Maximalmethode. Wir nehmen dabei an, σ sei genügend genau bekannt und es handle sich nur um den mittleren Fehler $\hat{\mu}$ von $\hat{\xi}$. Wie wir schon sahen, ist

$$\frac{\partial \Lambda'}{\partial \tau} \sim -\frac{\sigma^2}{\hat{\mu}^2},$$

$$\Sigma k \psi'(y) + \Sigma \tilde{k} \psi'(-y) \sim -\frac{\sigma^2}{\hat{\mu}^2}.$$

Ersetzt man links die k durch ihre Erwartungswerte pn, so wird die Näherung nicht schlechter, und man erhält

$$\Sigma n \{p \psi'(y) + (1-p) \psi'(-y)\} \sim -\frac{\sigma^2}{\hat{\mu}^2}$$

$$\sum n \left\{W''(y) - \frac{W'(y)^2}{W(y)}\right\} + \sum n \left\{W''(-y) - \frac{W'(-y)^2}{W(-y)}\right\} \sim -\frac{\sigma^2}{\hat{\mu}^2}$$

oder wegen $W(y) + W(-y) = 1$

$$\sum n \frac{W'(y)^2}{W'(y)\, W'(-y)} \sim \frac{\sigma^2}{\hat{\mu}^2}. \tag{29}$$

Die Brüche links werden maximal für $y = 0$. Also wird die Genauigkeit der Maximalmethode am größten, wenn alle benutzten Dosen nahe bei der 50 %-Dosis liegen. Die maximal erreichbare Genauigkeit ist durch

$$\hat{\mu}^2 = \frac{\pi}{2} \frac{\sigma^2}{\Sigma n} \tag{30}$$

gegeben, also genau gleich der maximalen Genauigkeit der Einpunktmethode.

Damit ist bewiesen, daß die Einpunktmethode, angewandt auf eine Dosis in der Nähe der 50 %-Dosis, die größte Genauigkeit erreicht, die sich bei gegebener Gesamttierzahl überhaupt erzwingen läßt.

Wir wollen nun die Genauigkeit der Flächenmethode im Fall gleicher n mit der maximal erreichbaren Genauigkeit vergleichen. Wie in § 2 nehmen wir an, daß die Differenzen $x_{j+1} - x_j$ konstant sind und daß die Dosen von einer praktisch unwirksamen zu einer solchen Dosis, die praktisch alle Tiere tötet, aufsteigen. Die Summe (29) läßt sich dann (ähnlich

Tabellen

x	y	p (%)	$\sqrt{p(1-p)}$	$n\mu_y^2$	$\psi(y)$	$y\psi(y)$	x	y	p (%)	$\psi(y)$	$y\psi(y)$
ξ	0	50,0	50	1,57	0,80	0,00	ξ	0	50,0	0,80	0,00
	0,1	54,0	50	1,58	0,74	0,07		− 0,1	46,0	0,86	− 0,09
	0,2	57,9	49	1,59	0,68	0,13		− 0,2	42,1	0,93	− 0,19
	0,3	61,8	49	1,62	0,62	0,19		− 0,3	38,2	1,00	− 0,30
	0,4	65,5	47	1,67	0,56	0,22		− 0,4	34,5	1,07	− 0,43
	0,5	69,1	46	1,72	0,51	0,25		− 0,5	30,9	1,14	− 0,57
	0,6	72,6	45	1,79	0,46	0,28		− 0,6	27,4	1,22	− 0,73
	0,7	75,8	43	1,88	0,41	0,29		− 0,7	24,2	1,29	− 0,90
	0,8	78,8	41	1,99	0,37	0,30		− 0,8	21,2	1,37	− 1,09
	0,9	81,6	39	2,12	0,33	0,29		− 0,9	18,4	1,45	− 1,30
$\xi + \sigma$	1,0	84,1	37	2,28	0,29	0,29	$\xi + \sigma$	− 1,0	15,9	1,53	− 1,53
	1,1	86,4	34	2,47	0,25	0,28		− 1,1	13,6	1,61	− 1,77
	1,2	88,5	32	2,70	0,22	0,26		− 1,2	11,5	1,69	− 2,03
	1,3	90,3	30	3,00	0,19	0,25		− 1,3	9,7	1,77	− 2,30
	1,4	91,9	27	3,32	0,16	0,23		− 1,4	8,1	1,85	− 2,60
	1,5	93,3	25	3,72	0,14	0,21		− 1,5	6,7	1,94	− 2,91
	1,6	94,5	23	4,21	0,12	0,19		− 1,6	5,5	2,02	− 3,24
	1,7	95,5	21	4,81	0,10	0,17		− 1,7	4,5	2,11	− 3,59
	1,8	96,4	19	5,56	0,08	0,15		− 1,8	3,6	2,20	− 3,95
	1,9	97,1	17	6,48	0,07	0,13		− 1,9	2,9	2,28	− 4,34
$\xi + 2\sigma$	2,0	97,7	15	7,63	0,06	0,11	$\xi + 2\sigma$	− 2,0	2,3	2,37	− 4,75
	2,1	98,2	13	9,1	0,04	0,09		− 2,1	1,8	2,46	− 5,17
	2,2	98,6	12	10,9	0,04	0,08		− 2,2	1,4	2,55	− 5,61
	2,3	98,9	10	13,2	0,03	0,07		− 2,3	1,1	2,64	− 6,07
	2,4	99,2	9	16,2	0,02	0,06		− 2,4	0,8	2,73	− 6,55
	2,5	99,4	8	20,1	0,02	0,04		− 2,5	0,6	2,82	− 7,06
	2,6	99,5	7	25,1	0,01	0,04		− 2,6	0,5	2,91	− 7,58
	2,7	99,7	6	31,8	0,01	0,03		− 2,7	0,3	3,01	− 8,12
	2,8	99,7	5	40,7	0,01	0,02		− 2,8	0,3	3,10	− 8,67
	2,9	99,8	4	52,6	0,01	0,02		− 2,9	0,2	3,19	− 9,25
$\xi + 3\sigma$	3,0	99,9	4	68,6	0,00	0,01	$\xi + 3\sigma$	− 3,0	0,1	3,28	− 9,85

wie die entsprechende Summe in § 2) in ein Integral verwandeln und es ergibt sich, in Übereinstimmung mit Gaddum (l. c. S. 28)

$$\hat{\mu}^2 = 0{,}554\,\frac{\delta\,\sigma}{n}. \tag{31}$$

In § 2 fanden wir für das mittlere Fehlerquadrat der Flächenmethode

$$\mu^2 = 0{,}564\,\frac{\delta\,\sigma}{n}.$$

Der mittlere Fehler der Flächenmethode ist somit nur um 1 % größer als der kleinste mittlere Fehler, der sich bei dieser Versuchsanordnung überhaupt erreichen läßt. Da die Flächenmethode erheblich weniger Rechenaufwand erfordert und von der Voraussetzung einer normalen Wirkungskurve unabhängig ist, so ist sie in den Fällen, in denen sie anwendbar ist, allen anderen Rechenmethoden vorzuziehen.

Zusammenfassung.

Verschiedene Verfahren zur Konzentrationsbestimmung von Wirkungsstoffen aus Tierversuchen werden auf ihre Genauigkeit hin geprüft und mit dem genauesten Verfahren, der „Maximalmethode" von R. A. Fisher, verglichen. Dabei zeigt sich, daß bei kleinen Tierzahlen und völlig unbekannter Konzentration des Wirkungsstoffes die „Flächenmethode" von Wirth, Behrens und Kärber allen anderen Rechenverfahren vorzuziehen ist (§ 4). Es werden Formeln angegeben, nach denen man bei dieser Methode nicht nur die mittlere tödliche Dosis [§ 2, Formeln (2) und (8)], sondern auch die Streuung der tödlichen Dosis oder Steigung der Wirkungsgeraden (9), sowie den mittleren Fehler der Auswertung [(4) und (5)] berechnen kann. Es wird weiter angegeben, wie man die Experimente einzurichten hat, um mit möglichst wenig Tieren eine gute Genauigkeit zu erzielen (§ 2). Sind andererseits die mittlere tödliche Dosis und die Streuung σ genähert bekannt, so ist die genaueste Auswertungsmethode die „Einpunktmethode", die darin besteht, daß eine Dosis, bei der ungefähr 50 % der Tiere reagiert, einer größeren Anzahl von Tieren eingegeben wird und durch den so gewonnenen Beobachtungspunkt die Wirkungsgerade gelegt wird [§ 3, Formel (12)]. Der mittlere Fehler dieser Methode wird angegeben [Formeln (15) und (16)]. Bei großen Tierzahlen kommt, besonders wenn σ nicht von vornherein bekannt ist, auch noch die „Zweipunktmethode" in Betracht, deren mittlerer Fehler durch Formel (19) gegeben wird.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. W. (Direktor: Prof. Dr. med. L. Lendle.)

Über den Einfluß von pflanzlichen Hautreizstoffen auf das Wachstum des experimentellen Mäusecarcinoms*.

Von

Hans Puhlmann.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. Juni 1940.)

Schon seit jeher wurden in der Volksmedizin zur Behandlung von Warzen und Hautcarcinomen pflanzliche Reizstoffe, meist in Form von Frischsäften, herangezogen. So gelten auch heute noch als besonders wirksam Chelidonium majus (Schöllkraut), Onopordon acanthium (Krebsdistel), Cnicus benedictus (Kardobenediktenkraut), Clematis recta (Waldrebe), Euphorbia cyparissias (Wolfsmilch), Achillea millefolium (Schafgarbe) und Sempervivum tectorum (Hauslauch). Der Grund für die Wahl einer solchen Behandlungsmethode war zunächst wohl vorwiegend in den hautreizenden Eigenschaften solcher Pflanzensäfte zu sehen. Die Ursache der verschiedentlich erzielten Erfolge schien somit in einer direkten Zellzerstörung mit lokalen Entzündungsreaktionen und Erweichungen im Tumorgewebe zu suchen zu sein.

In neuerer Zeit war es nun naheliegend, hierbei auch an eine indirekte Wirkung zu denken, derart, daß der betreffende Stoff, indem er über den Organismus des Tumorträgers auf den Tumor wirkt, den Organismus in einen Zustand erhöhter Abwehrbereitschaft versetzt, wobei die direkte Wirkung des Stoffes auf die Tumorzelle selbst in diesem Zusammenhang als relativ gering zu werten wäre. So ist allgemein bekannt, daß unter dem Einfluß entzündlicher Prozesse der Haut, z. B. eines Erysipels, nicht selten bösartige Geschwülste zur teilweisen oder gar gänzlichen Rückbildung kommen. Untersuchungen der letzten Jahre haben ergeben, daß auch die künstlich gesetzte Entzündung der Haut, z. B. durch Senf- oder Kantharidenpflaster in dieser Richtung wirksam ist [Auler (1), Koch (2)]. Andererseits spricht gegen die Anwendung lokaler Behandlung, daß nach Auler (1) bei spontaner wie bei therapeutischer Tumorerweichung oft eine zunehmende Neigung zur Metastasenbildung nachweisbar ist. Weiterhin weist Caspari (3) auf die Gefahr der Allgemeinintoxikation durch

* Die Arbeit wurde mit freundlicher Unterstützung des „Westfälischen Vereins für Krebs- und Lupusbekämpfung, Münster in Westf.", dem an dieser Stelle unser Dank ausgesprochen sei, ausgeführt.

Tumorzerfallsprodukte hin. Im übrigen ist es merkwürdig, daß gerade die Volksmedizin, die sonst in der Behandlung äußerlicher Krankheiten allgemein eine Gefahr eines „Nachinnenschlagens" sah, gegenüber einer Behandlung von Hautwarzen und Hautkrebsen mit pflanzlichen Reizstoffen offenbar keine Bedenken zeigte.

Das bereits im Altertum zur Beseitigung von Warzen und Hautkrebsen angewandte Chelidonium majus ist in neuerer Zeit auch verschiedentlich in der Klinik zur Behandlung von Carcinomen herangezogen worden. So unternahm gegen Ende des vergangenen Jahrhunderts der Russe Denissenko (4) die ersten systematischen lokalen Behandlungsversuche mit Chelidonium bei Carcinomen der äußeren Haut, indem er mehrere Lippenkrebse zunächst mit dem Saft der frisch gepflückten Herbae Chel. maj., später mit dem käuflichen Extrakt dieser Droge, angeblich mit günstigem Erfolge, behandelte. Er trug den Frischsaft direkt auf die Oberfläche des Tumors auf oder injizierte ihn an der Grenze zwischen normalem und krankem Gewebe; verschiedentlich verabreichte er ihn auch zusätzlich per os. Nach seinen Mitteilungen kam es unter einer solchen Behandlung innerhalb von 3—5 Tagen zur Erweichung des Tumors, nach 15—20 Tagen bildete sich zwischen gesundem und krankem Gewebe eine Demarkationslinie. Der Tumor verkleinerte sich um die Hälfte; die benachbarten „affizierten Lymphdrüsen" wurden resorbiert. Im Anschluß an diese günstigen Berichte von Denissenko machten Winter und Schmitt (5) den Versuch, Uteruscarcinome durch wöchentliche, subcutane lokale Injektionen von 1 g einer 50%igen wässerigen Lösung des Chelidoniumextraktes zu beeinflussen. Es kam zu einer starken lokalen Reaktion ohne Beeinflussung des Tumorwachstums. Auch Freudenberg (6) versuchte anschließend mit einer 50%igen Lösung von Extr. chel. maj. inoperable Uteruscarcinome durch direkte Applikation zu beeinflussen. Unter dieser Behandlung kam es zwar zu einer Reinigung der jauchigen Ulcerationen und damit einer weitgehenden Beseitigung des unangenehmen Geruchs; Tumorwachstum und Metastasenbildung wurden jedoch nicht beeinflußt. Dührsen (7) behandelte ein Uteruscarcinom mit Chel. maj. ohne Erfolg bei ausgesprochen schlechter Verträglichkeit. Weiterhin berichtete vor kurzem Körbler (8) aus Jugoslawien über die Behandlung von Haut- und Mammacarcinomen mit frischem Saft oder Blättern von Chel. maj. „dem bekannten Volksmittel gegen Warzen". Während er von einer günstigen Beeinflussung von Warzen berichtet, scheint nach seinen Angaben eine Behandlung von Carcinomen mit Chel. maj. wenig aussichtsvoll zu sein. Obwohl diese bisherigen klinischen Nachprüfungen doch wenig einheitliche Ergebnisse erbracht haben, wird letzthin von verschiedenen Autoren erneut auf das Ansehen hingewiesen, das der Milchsaft des Chel. maj. als wirksames Mittel gegen Warzen und Hautcarcinome in der Volksmedizin auch heute noch genießt [Ripperger (9), Jaretzky (10), Schulz (11)].

Experimentelle Untersuchungen über die Beeinflussung von Carcinomen der Haut durch pflanzliche Stoffe sind bisher nur vereinzelt unternommen worden. So untersuchte Stickl (12), inwieweit insbesondere die Alkaloide des Chel. maj. bzw. deren Salze subcutan tumorfern injiziert einen Einfluß auf das Wachstum und den allgemeinen Krankheitsvorgang bei Ehrlichschen Mäusecarcinomen haben. Er erzielte hiermit zum Teil ganz günstige Ergebnisse. Die beste Wirksamkeit zeigte das Cholerythrin-Sanguinarin-Chlorid. Ferner versuchte Stickl ausgehend von theoretischen Überlegungen bezüglich der funktionellen und chemischen Besonderheiten der Krebszelle sowie den Stoffwechseleigentümlichkeiten des Krebsgewebes und des carcinomatösen Organismus die therapeutische Wirksamkeit dieses Cholerythrin-Sanguinarin-Chlorid durch systematische Kombination mit Calcium, Kalium, Lecithin, Cholesterin und Methylenblau allmählich zu erhöhen. Als besonders wirksam erwies sich hierbei die kombinierte Anwendung mit Calcium und Lecithin gleichzeitig. Koch (2) prüfte die Wirkung intra- und peritumoraler Injektionen mit Extrakten von Viscum album ebenfalls auf Ehrlichsche Mäusecarcinome. Schon 24 Stunden nach Beginn der Behandlung sah er deutliche histologische Veränderungen am Tumorgewebe. Der Tumor erweicht nicht unter Viscum, sondern wird härter und trocknet ein, wodurch Resorptionsintoxikationen durch erweichte Tumormassen sowie über das normale Maß hinausgehende Metastasierungen vermieden werden.

Neben pflanzlichen Reizstoffen fanden auch die verschiedensten anderen ätzenden Stoffe wie Lost, Chlorzink u. a. m. lokale Anwendung. So verhindert nach Visser und Vos (13) eine lokale Behandlung mit $0{,}5^0/_{00}$ in Aceton gelöstem Lost das Angehen von Mäuseteerkrebsen; schon bestehende Tumoren verschwinden wieder. Die Mortalität solcher mit Lost behandelter Tiere ist allerdings ziemlich groß. Das Chlorzink wurde seit Jahrzehnten insbesondere zur Behandlung von inoperablen Uteruscarcinomen verwandt. Driessen (14) stellt sich die Wirkung des Chlorzinks so vor, daß die hygroskopische Eigenschaft des Chlorzinks eine Mumifikation des Gewebes erzeugt, worauf Muskel- und Bindegewebsfibrillen schrumpfen, so daß sich die intrafaszikulären Räume erweitern; hierbei entsteht eine Nekrose, die dann in toto in Form eines Sequesters abgelöst werden kann. Auch Fränkel (15), Czerny (16) u. a. m. bedienten sich des Chlorzinks meist nach vorheriger Entfernung der oberflächlichen Schichten des Tumorgewebes, bei Uteruscarcinomen ebenfalls mit gutem Erfolge. Experimentelle Nachprüfungen der Chlorzinkwirkung am Ehrlichschen Mäusecarcinom durch Koch (17) erbrachten allerdings keine befriedigenden Resultate. Die Versuche mit den meisten derartigen Stoffen sind inzwischen wieder aufgegeben worden, da einmal das angrenzende Gewebe hierbei meist einer zu starken Nekrotisierung unterworfen wird und andererseits eine außerdem ausschließlich gewebszerstörende Wirkung eines solchen Stoffes offenbar für eine lokale Carcinombehandlung allein nicht ausreicht.

Pflanzliche Reizstoffe finden dagegen, wie bereits eingangs erwähnt, auch heute noch vielfach Verwendung. Wir haben hier deshalb den Versuch unternommen, die Wirkung solcher pflanzlicher Reizstoffe auf experimentelle Carcinome an einer größeren Tierreihe zu prüfen. Zur Anwendung kamen Chelidonium majus, Euphorbia cyparissias, sowie ein definierter Reizstoff, das Oleum sinapis *. Als Tumoren wurden statt der zu Spontanheilungen neigenden Impftumoren mit außerdem meist ungleicher Wachstumsintensität durch Benzpyren erzeugte Pinseltumoren verwandt.

Methodik.

Zur experimentellen Erzeugung der Warzen und Hautcarcinome wurden etwa 500 15—18 g schwere, 8—12 Wochen alte, weibliche weiße Mäuse wöchentlich zweimal, insgesamt 25—35mal mit Benzpyren gepinselt, d. h. es wurde nach der von Domagk (18)** angegebenen Methode je ein Tropfen in Benzol gelösten Benzpyrens mit einem dünnen Glasstab in der Nackengegend auf das Fell aufgetragen. Während der ersten 4 Wochen wurde, um den Verlust von Tieren an durch Resorption von Benzpyren bedingten Intoxikationen möglichst niedrig zu halten, stets nur 0,3%ige, dann weiterhin eine 0,5%ige Lösung verwandt.

Unter der Einwirkung des Benzpyrens kam es an den gepinselten Stellen nach etwa 2—3 Wochen zunächst zu einem allgemeinen Haarausfall. Beim Auftreten der ersten Zeichen eines beginnenden Warzenstadiums, ungefähr nach 70—80 Tagen, wurden die bis zu diesem Zeitpunkt in Käfigen zu je 25 Tieren gehaltenen Mäuse auf Einzelkäfige verteilt, um ein gegenseitiges Anbeißen der Warzen zu verhindern. Innerhalb von meistens 4—8 Wochen nach ihrer Entstehung entarteten die Warzen carcinomatös. Die entstehenden Carcinome waren in fast allen Fällen Plattenepithelcarcinome, die meist eine ausgesprochene, in ihrem Ausmaß aber stark verschiedene Verhornung zeigten.

Von den so mit Benzpyren gepinselten Tieren konnten etwa 150 in den endgültigen Versuch genommen werden, die dann in drei Gruppen zur Behandlung mit Chelidonium majus, Euphorbia cyparissias und Oleum sinapis eingeteilt wurden. Hierbei wurde so verfahren, daß ungefähr bei der einen Hälfte jeder Gruppe die Behandlung im Warzenstadium, bei der anderen Hälfte im Tumorstadium begonnen wurde; etwa $^1/_3$ der Tiere wurden jedesmal als Kontrollen unbehandelt gelassen. Die Tiere wurden ohne Ausnahme jeden Tag behandelt. Es wurde jedesmal soviel von der Behandlungsflüssigkeit aufgetragen, daß stets die gesamte Warze oder der gesamte Tumor und die angrenzenden Hautpartien deutlich benetzt waren. Zur Beurteilung der Größenentwicklung der Warzen wie der Carcinome wurden die Tiere vor Beginn und dann weiterhin während der Behandlung in Abständen von 10—14 Tagen stets aus der gleichen Entfernung photographiert. Insgesamt wurden 400 Aufnahmen gemacht. Bei Abschluß der Behandlung wurden die Tiere mit

---

* Es war zunächst beabsichtigt, noch einen weiteren sehr stark wirksamen, nicht-pflanzlichen Reizstoff, das Cantharidin, zu prüfen. Hierbei gelang es uns in unseren Vorversuchen aber nicht, eine Reizwirkung auf der intakten Mäusehaut zu erzielen. Wir fanden dann eine Mitteilung von Poulsson, daß Mäuse eine lokale Immunität gegenüber Cantharidin haben und stellten deshalb weitere Versuche ein.

** Herrn Prof. Dr. Domagk möchte ich auch an dieser Stelle für die freundliche Überlassung des Benzpyrens sowie für die mir aus seiner reichen Erfahrung gewährten Ratschläge bei der experimentellen Erzeugung der Tumoren herzlich danken.

Leuchtgas getötet, der Tumor mit möglichst viel angrenzender Haut herauspräpariert und Lungen sowie Lebern zur histologischen Untersuchung* auf Metastasen entnommen.

Um eine Vergleichsmöglichkeit über die lokale Reizwirkung der zur Behandlung herangezogenen pflanzlichen Reizstoffe zu gewinnen, wurden diese in Selbstversuchen zunächst sowohl auf intakte wie auf scarifizierte menschliche Haut gebracht.

Tabelle 1. Vergleiche über die Reizwirkung verschiedener pflanzlicher Reizstoffe auf die intakte und scarifizierte menschliche Haut.

Reizstoff	Intakte Haut	Scarifizierte Haut
Chelidonium majus (spontan aus den Stengeln abtropfender Saft	(+)	+
Euphorbia cyparissias (spontan aus den Stengeln abtropfender Saft	+	+++
Oleum sinapis (Verdünnungflüssigkeit: Aceton)		
1 : 100	(+)	+
1 : 50	+	+
1 : 10	+	+
1 : 5	++	++
1 : 2	+++	+++
Reines Oleum sinapis	+++	+++
Aceton	0	(+)

(+) = kurzes, schnell vorübergehendes Brennen, keine Rötung.
\+ = etwas länger anhaltendes Brennen, schnell vorübergehende leichte Rötung.
++ = etwas stärkeres Brennen, bis zu mehreren Minuten anhaltende Rötung.
+++ = starkes Brennen, bis zu Stunden anhaltende starke Rötung.

Wie aus den in Tabelle 1 wiedergegebenen Versuchen hervorgeht, ist der Saft des Chel. maj. auf der intakten Haut fast wirkungslos und zeigt auch auf der scarifizierten Haut nur geringe Reizwirkung. Im Gegensatz hierzu ruft der Saft der Euph. cyp., der auf der intakten Haut eine leichte aber sichere Wirkung ausübt, auf der scarifizierten eine stärkere entzündliche Reaktion ohne Blasenbildung hervor, deren Zeichen tagelang anhalten können. Das Oleum sinapis bewirkt sowohl auf der intakten wie auf der scarifizierten Haut bereits in Konzentrationen von 1 : 50 bis 1 : 100 (in Aceton gelöst) ein deutlich wahrnehmbares Brennen und eine kurzdauernde Rötung, Symptome, die sich bei steigenden Konzentrationen entsprechend verstärken.

* Herrn Dr. Kurt Holstein, Assistent der Universitäts-Frauenklinik, verdanke ich weitgehende Unterstützung bei der Durchsicht der histologischen Schnitte.

I. Chelidonium majus.

Das schon im Altertum zur Heilbehandlung verwandte Chelidonium majus gehört zu den Papaveraceen. Der aus den frisch gepflückten Stengeln und Blättern hervorquellende orangerote Milchsaft von bitterem und scharfem Geschmack enthält in wechselnden Mengen verschiedene Alkaloide und mehrere stark entzündungserregende harzartige Stoffe. Die innerliche Anwendung dieser Droge gegen Schmerzen bei Darm- und Gallenblasenleiden, sowie bei Carcinomen des Magen- und Darmtraktus [Jaretzky (10)] findet ihre Erklärung wahrscheinlich in der spasmolytischen und analgetischen Wirkung der vorhandenen Alkaloide.

Da Denissenko (4) bei seinen Behandlungsversuchen sowohl Frischsäfte wie späterhin auch käufliche Extrakte der Droge verwandt hatte und weiterhin die Mißerfolge eines Teiles seiner Nachuntersucher möglicherweise nur auf der Verwendung von käuflichen Extrakten statt Frischsäften beruht haben, verwandten wir bei unseren Versuchen nur frischen, stets erst bei der Auftragung auf die Warze oder den Tumor aus frisch gepflückten Stengeln abtropfenden Saft.

Eine Prüfung der warzenbeseitigenden Wirkung ist, da uns bisher keine einwandfreie Methode zur experimentellen Erzeugung von gutartigen Warzen zur Verfügung steht, naturgemäß erschwert und unsicher. Die von uns erzeugten Warzen (Abb. 2) waren durch Pinseln mit carcinogenen Substanzen entstanden. Sie stellen also ein Zwischenstadium der experimentellen Krebserzeugung dar und gehen innerhalb weniger Wochen sämtlich in Plattenepithelcarcinome über. Immerhin hätte man auch bei diesen Warzen, sofern den geprüften Stoffen eine Wirkung zukam, wenn auch nicht gleich eine Verhinderung, so aber doch eine Verzögerung des Überganges in Carcinome erwarten können (Tier 1—31). Durch die 68tägige Behandlung wurde aber im Vergleich zu den Kontrollen weder eine carcinomatöse Entartung verhindert noch der Zeitpunkt des Überganges in ein Carcinom hinausgeschoben, noch wurde die Nekrosenbildung beeinflußt oder eine bestehende Nekrose beseitigt. Gewebseinschmelzende oder gewebeeintrocknende Vorgänge, die auf den Einfluß des Chel. maj. hätten zurückgeführt werden können, wurden nicht beobachtet.

Ebenso sahen wir keinen Einfluß des Chel. maj. auf solche Tumoren, deren Behandlung im Carcinomstadium (Abb. 3 u. 4) begonnen worden war, weder wie ihn Denissenko schildert in Form einer Erweichung, einer Demarkation gegen das angrenzende normale Gewebe, einer Verkleinerung des Tumors und einer weitgehenden Resorption der „affizierten Lymphdrüsen", noch sahen wir eine „reinigende", d. h. eine das nekrotische Gewebe beseitigende Wirkung.

Die histologische Untersuchung aller dieser Tumoren, deren Behandlung im Warzen- oder Tumorstadium begonnen worden war, zeigte stets eine so ausgesprochene Tumornekrose, daß meist mehr nekrotisches als

nichtnekrotisches Tumorgewebe vorhanden war. Die Abgrenzung der Tumoren zum normalen Gewebe hin war im allgemeinen ziemlich scharf. Entzündungsreaktionen in der Umgebung der Tumoren fehlten fast völlig,

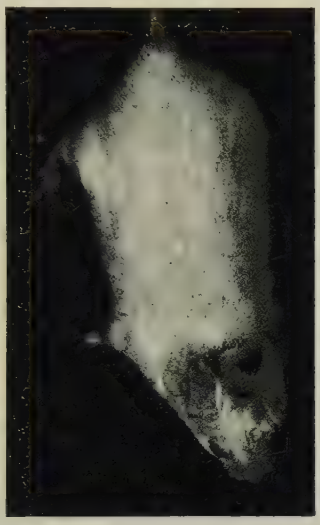


Abb. 2. Vollentwickeltes Warzenstadium.

Abb. 4. Carcinomstadium bei Behandlungsabschluß (Chel. majus)

Abb. 1. Beginnendes Warzenstadium.

Abb. 3. Vollentwickeltes Carcinomstadium bei Behandlungsbeginn.

waren dagegen im nekrotischen wie im nichtnekrotischen Gewebe der Tumoren stets reichlich vorhanden. Bei den Nekrosen handelte es sich vorwiegend um Koagulations- und kaum um Colliquationsnekrosen, also um keine ausgesprochenen Erweichungen. Metastasen fanden wir zu einem

so geringen Prozentsatz (zweimal in der Leber), daß sie sicher nicht auf vermehrte Einschmelzungsvorgänge, sondern auf eine Absiedlung, wie sie in geringem Grade auch spontan bei Benzpyrentumoren aufzutreten pflegen, zurückzuführen sind.

II. Euphorbia cyparissias.

Unter den Euphorbiaceen, die seit alters eine große Rolle als Volksheilmittel zur Beseitigung von Warzen und Carcinomen spielen, gilt der Saft der Euphorbia cyparissias neben dem Chelidonium majus seit vielen Jahrzehnten insbesondere als wirksames Mittel gegen den Gesichtskrebs. Einer klinischen Nachprüfung wurde die Euph. cyp. m. W. bisher nicht unterzogen.

Der ebenfalls aus den Blättern und Stengeln hervorquellende weiße Milchsaft der Euphorbiaceen ruft auf der scarifizierten Haut im Gegensatz zu der intakten heftige Reaktionen hervor, die stunden- und tagelang andauern können. Die reizwirksame Substanz ist ein amorphes, insbesondere auch die Schleimhäute stark reizendes Harz. Weitere Inhaltstoffe sind das geruch- und geschmacklose kristalline Euphorbon, das nach neueren Untersuchungen ein Gemenge zweier ungesättigter Alkohole darstellt [Jaretzky (10)]. Ferner enthält die Droge neben einigen unbedeutenden Stoffen etwas Apfelsäure und geringe Mengen Bitterstoffe.

Da für eine Maus eine vollentwickelte Warze mit einem Durchmesser von 2—3 mm oder gar ein Carcinom bis zu 5—10-Pfennigstück-Größe naturgemäß schon ein beträchtliches Gebilde darstellt, könnte man nun einwenden, daß es wenig wahrscheinlich sei, daß derartige umfangreiche Neubildungen verglichen mit der Größe der Maus noch einer Beeinflussung zugänglich seien. Wir haben deshalb bei der Behandlung mit Euph. cyp. unsere Tiere nicht wie beim Chelidonium in zwei Gruppen geteilt, um die Behandlung einmal im vollentwickelten Warzenstadium und das andere Mal im Carcinomstadium zu beginnen, sondern haben bei allen Tieren mit der Behandlung bereits im beginnenden Warzenstadium eingesetzt (Abb. 1).

Aber auch in diesem Fall sahen wir von unserer Behandlung nicht die geringste Einwirkung. Die Größenentwicklung dieser Warzen (Tier 109 bis 155) und der Übergang dieser in Carcinome — 80% der Warzen waren bei Abschluß der Behandlung bereits carcinomatös entartet — verlief unter der 43tägigen Behandlung mit Euph. cyp. in der gleichen Weise wie bei den Kontrolltieren. Tierverluste durch äußerlich erkennbare Intoxikationserscheinungen traten nicht auf; der Ausfall an spontan zugrunde gehenden Tieren entsprach der Norm.

Das histologische Bild zeigte bei Abschluß der Behandlung mittelgroße bis kleinste Neubildungen, davon etwa 20% noch im Warzen-, die übrigen dagegen bereits im Carcinomstadium. Bei allen fand sich eine oberflächliche Nekrose, wobei sich die Nekrose und das noch erhaltene Tumorgewebe

mengenmäßig ungefähr die Waage hielten: das nekrotische wie das noch erhaltene Tumorgewebe wiesen keine stärkeren entzündlichen Reaktionen auf. Ebenso waren keine entzündlichen Reaktionen in der Umgebung der Warzen oder Tumoren, die auf eine Einwirkung der Euph. cyp. hätten zurückgeführt werden können, nachweisbar. Die Verhornung war im allgemeinen — offenbar wegen des jüngeren Entwicklungsstadiums — weniger ausgeprägt als bei der Schöllkrautgruppe. Die Abgrenzung der Carcinome zum umliegenden Gewebe war meist ziemlich scharf. Metastasen konnten wir in keinem Fall nachweisen.

III. Oleum sinapis.

Abschließend prüften wir die Wirkung des stark hautreizwirksamen Oleum sinapis. Das Oleum sinapis aethereum entsteht bekanntlich durch fermentative Spaltung aus dem in den Samen von Brassica nigra enthaltenen Glykosid Sinigrin, das unter Wasseraufnahme in Senföl, Traubenzucker und Kaliumbisulfat zerfällt. Auf der unverletzten wie auf der scarifizierten Haut ruft das Oleum sinapis, wie aus Tabelle 1 ersichtlich, in Konzentration ab 1 : 100 zunächst ein leichtes Brennen, sowie ein ausgesprochenes Wärmegefühl und eine mehr oder weniger starke Rötung hervor; bei längerer Einwirkung des reinen Ol. sinapis kommt es zu starken Entzündungsreaktionen, unter Umständen sogar zu Blasen- und Geschwürbildung bis zur völligen Zerstörung des Gewebes.

Zur Krebsbehandlung ist Ol. sin. m. W. bisher nicht herangezogen worden. Sollte eine warzen- oder carcinomzerstörende Eigenschaft verschiedener pflanzlicher Reizstoffe vorwiegend auf einer entzündungserregenden und weniger auf einer nekrotisierenden Wirkung beruhen, dann wäre eine solche in besonderem Maße von dem stark entzündungserregenden Oleum sinapis zu erwarten. Die von uns gewählte Konzentration von 1 : 5 lag in ihrer Wirksamkeit gegenüber der intakten Haut weit über derjenigen des Chel. maj. und der Euph. cyp., während ihre Wirkung auf die scarifizierte Haut zwischen beiden lag; die Wirkung auf die verletzte Haut dürfte aber, wie die Versuche mit Euph. cyp. bereits gezeigt haben, für unsere Fragestellung nicht entscheidend sein. Das als Lösungsmittel verwandte Aceton wurde in seiner Wirkung auf die intakte Mäusehaut bei täglicher Auftragung über Monate hin als einflußlos festgestellt.

Die mit dieser Konzentration behandelten Warzen (Tier 50—87) gingen im Verlaufe der Behandlung in der gleichen Weise wie die Kontrollen sämtlich in Carcinome über. Ausmaß und Geschwindigkeit des Wachstums zeigten keine Unterschiede. Ebenso wiesen diejenigen Tumoren, deren Behandlung im Carcinomstadium eingesetzt hatte (Tier 32—49), gegenüber ihren Kontrollen keine sicheren Unterschiede auf. Tierverluste durch Intoxikation während der Behandlung traten nur ganz vereinzelt ein; der Ausfall an spontan während der Behandlung eingehenden Tieren war sehr gering.

Die histologische Untersuchung zeigte dagegen bei denjenigen Tieren, deren Behandlung im Warzenstadium begonnen worden war, ein unter-

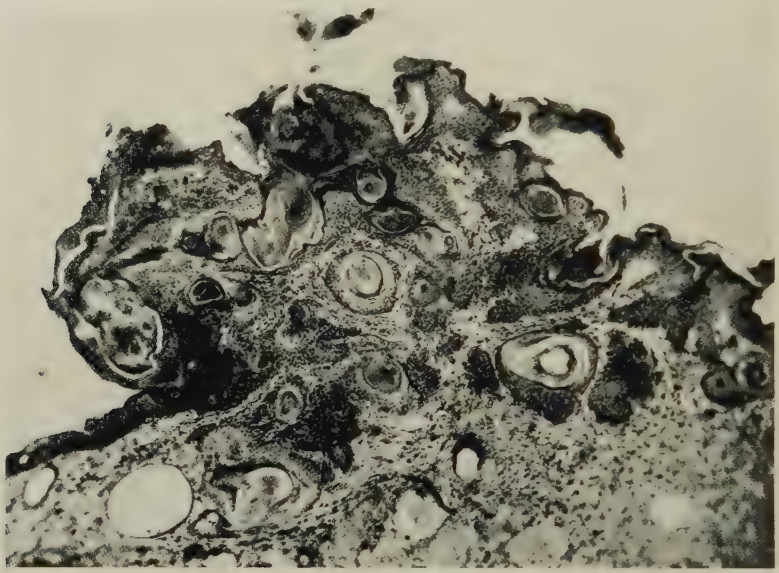


Abb. 5. Mit Ol. sin. behandeltes Carcinom (Behandlungsbeginn im Warzenstadium). Geringe Nekrose.

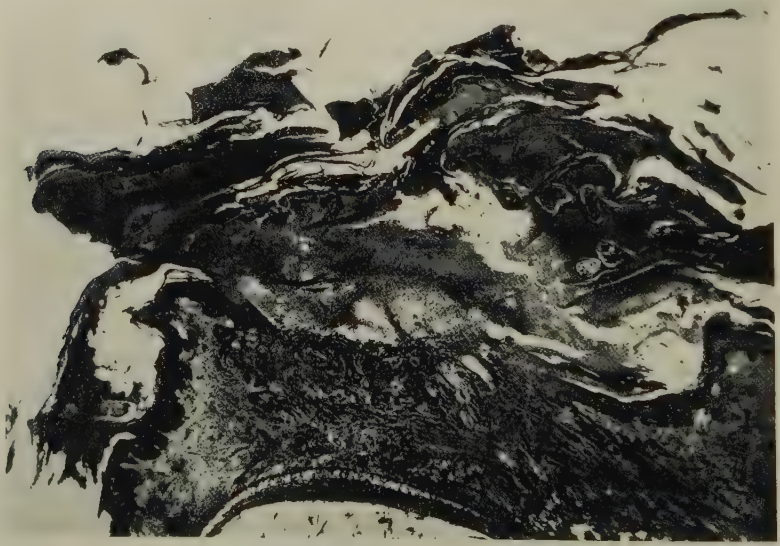


Abb. 6. Kontrolltier zu Abb. 5. Starke Nekrose.

schiedliches Verhalten im Ausmaß der Nekrosen, derart, daß die behandelten Warzen bzw. Tumoren durchschnittlich weit weniger Nekrosen aufwiesen

als die unbehandelten (Abb. 5 u. 6). Histologische Struktur und Ausmaß des erhaltenen Tumorgewebes zeigten jedoch keine sicheren Unterschiede gegenüber den Kontrollen, so daß das gegensätzliche Verhalten in bezug auf die Ausdehnung der Nekrosen nur so gedeutet werden kann, daß das Ol. sin. die Abstoßung der bereits vorhandenen Nekrosen begünstigt hat.

Zu dieser Feststellung ist darauf hinzuweisen, daß vor einigen Jahrzehnten Gellhorn (19) und im Anschluß an ihn mehrere weitere Untersucher über einen die carcinomatösen Ulcerationen reinigenden Einfluß des Acetons bei Portiocarcinomen berichtet haben. Es ist deshalb, obschon, wie bereits oben angeführt, wir nach vielwöchiger täglicher Applikation von Aceton keinerlei entzündungserregenden oder nekrotisierenden Einfluß auf die intakte Mäusehaut gesehen haben, nicht ausgeschlossen, daß die die Nekrosenabstoßung fördernde Wirkung unserer Senföllösung auf der Wirkung des Acetons und nicht derjenigen des Senföls beruht.

Die Tumoren, mit deren Behandlung im Carcinomstadium begonnen worden war, wiesen in bezug auf die Nekrosen kein gegensätzliches Verhalten auf. Sämtliche Tumoren waren gegen das sie umgebende Gewebe meist gut abgegrenzt. Entzündliche Reaktionen in der Umgebung der Tumoren wurden nicht gefunden, dagegen in leichtem Grade fast regelmäßig im erhaltenen Tumorgewebe und in den Nekrosen. Die Stärke der Verhornung war zwar wechselnd aber doch meist ziemlich ausgeprägt. Zweimal sahen wir das Auftreten eines Mammacarcinoms. Bei der Frage, ob es sich hierbei um Metastasen oder um primäre Carcinome handelt, möchten wir bei dem häufigen spontanen Entstehen von Mammacarcinomen bei Mäusen, insbesondere bei gleichzeitiger Pinselung mit carcinogenen Stoffen annehmen, daß es sich auch hier nicht um eine Gewebsabsiedlung im Gefolge der Behandlung mit Oleum sinapis handelt.

Zusammenfassung.

1. Die verschiedenen pflanzlichen Reizstoffen zugeschriebenen warzenbeseitigenden und hautcarcinomheilenden Wirkungen wurden einer experimentellen Nachprüfung an Mäusen unterzogen. Als Tumormaterial kamen Warzen und Hautcarcinome zur Verwendung, die durch Pinseln mit dem carcinogenen Teerderivat „Benzpyren" erzeugt worden waren.

2. Unter der Behandlung mit dem frischen Milchsaft des Chelidonium majus, die teils im Warzenstadium teils im Carcinomstadium einsetzte, konnte kein Einfluß bezüglich Wachstumsgeschwindigkeit und -ausmaß, Nekrosenbildung und Nekrosenabstoßung, sowie bei den Warzen bezüglich des Zeitpunktes des Überganges in Carcinome nachgewiesen werden.

3. Unter der Behandlung mit dem frischen Milchsaft der Euphorbia cyparissias, die bei dieser gesamten Tiergruppe im beginnenden Warzenstadium begonnen wurde, um während einer möglichst langen Zeit-

spanne mit der Behandlung noch das eigentliche Warzenstadium erfassen zu können, sahen wir ebenfalls keinen Einfluß bezüglich der Wachstumsgeschwindigkeit, der Größe, des Zeitpunktes des Überganges in Carcinome, sowie der Nekrosenbildung und der Nekrosenabstoßung.

4. Auch die mit Oleum sinapis (1 : 5 in Aceton) behandelten Warzen zeigten makroskopisch bezüglich ihrer Größenentwicklung und des Zeitpunktes ihres Überganges in Carcinome keine Abweichung gegenüber den Kontrolltieren. Die histologische Untersuchung erbrachte nur ein unterschiedliches Verhalten im Ausmaß der Nekrosen, derart, daß die behandelten Warzen bzw. Tumoren weniger Nekrosen aufwiesen als die unbehandelten.

5. Sämtliche behandelten Warzen und Carcinome zeigten gegenüber den Kontrollen keine Unterschiede betreffs Entzündungsreaktionen, Abgrenzung gegen das umgebende Gewebe, Verhornung und Metastasenbildung.

6. Während durch unsere Untersuchungen an experimentell erzeugten Warzen, die ein Zwischenstadium der experimentellen Krebserzeugung darstellen und deshalb spontanen gutartigen Hautwarzen nicht ohne weiteres vergleichbar sind, ein Einfluß der von uns geprüften Hautreizstoffe auf spontan auftretende gutartige Hautwarzen nicht ausgeschlossen werden kann, haben wir für das Chelidonium majus und für die Euphorbia cyparissias den experimentellen Nachweis erbracht, daß diese bei direkter Applikation des reinen Milchsaftes weder die Entstehung noch die weitere Entwicklung eines Hautcarcinoms in irgendeiner Beziehung im Sinne einer Hemmung beeinflussen.

Literatur.

1) Auler, H.: Wissensch. Woche zu Frankfurt a. M. **1934**, S. 134. — 2) Koch, F.: Z. Krebsforsch. **47**, 325 (1938). — 3) Caspari, W.: Ebenda **43**, 255 (1936). — 4) Denissenko, W.: Wratsch **30**/96; zit. Dtsch. Med.ztg. **77**, 815 (1897). — 5) Winter u. Schmitt: Zbl. Gynäk. **2**, 859 (1897). — 6) Freudenberg: Ebenda, S. 940. — 7) Dührsen: Dtsch. med. Wschr. **49**, 787 (1896). — 8) Körbler, J.: Medizinski Pregled **7**—**9**, 167 (1938). — 9) Ripperger, W.: Grundlagen zur praktischen Pflanzenheilkunde. Stuttgart/Leipzig, Hippokrates-Verlag, 1937. — 10) Jaretzky, R.: Pharmakognosie. Deutscher Apotheker-Verlag, 1937. — 11) Schulz, H.: Vorlesungen über Wirkung und Anwendung der deutschen Arzneipflanzen. Leipzig, Verlag Gg. Thieme, 1929. — 12) Stickl, O.: Virchows Arch. **270**, 801 (1928). — 13) Visser u. Vos: Z. Krebsforsch. **43**, 157 (1936). — 14) Driessen, F.: Zbl. Gynäk. **5**, 272 (1927). — 15) Fränkel, E.: Ebenda **37**, 593 (1888). — 16) Czerny: Arch. klin. Chir. **61**, 287 (1900). — 17) Koch, F.: Jahrbuch Dr. Madaus u. Co., Radebeul 1937. — 18) Domagk, G.: Medizin und Chemie **3**, 274 (1936). — 19) Gellhorn, G.: Münch. med. Wschr. **51**, 2528 (1907).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.

Permeabilitäts-Studien mit Cortidyn*.

Von

Herbert Rauchschwalbe.

(Eingegangen am 3. Juni 1940.)

Einleitung.

Über die Nebennierenrinde und ihre physiologische Bedeutung liegen zwei Werke vor, welche eine Übersicht über unsere Kenntnisse der Funktion der Nebennierenrinde geben: Thaddea (1) (1936) und Verzár (2) (1939).

Man sieht die Wirkung des Nebennierenrindenhormons aus den verschiedenen Krankheitsbildern, die die Nebennieren betreffen, wenn die Wirkung des Nebennierenmarkes erhalten ist. Das Bild der Nebennierenüberfunktion weist Fettsucht, Hypertonie, Glykosurie, Polycythämie und Umstellung des Geschlechtscharakters auf. Dagegen kommt es bei Nebennierenausfall oder Entfernung zur Addisonschen Krankheit: Braune Hautpigmentation, Blutdrucksenkung, verminderte Atemfrequenz, erniedrigte Körpertemperatur, Hinfälligkeit, Muskelschwäche und Muskelzittern; sehr früher Ausfall bringt Wachstumsstörungen, die an Hypophysenzwergwuchs erinnern. Der Einfluß auf die Permeabilität, auf den normalen Austausch zwischen Blut und Gewebe ist aus den Stoffwechselstörungen im Mineralhaushalt des Blutes, dem Wasserhaushalt und dem Kohlehydratstoffwechsel zu ersehen. Im Blute sinkt der Gehalt an Kochsalz und Natrium, steigt der Kalium- und Magnesiumgehalt, das Verhältnis von Na zu K ist zugunsten von K verschoben, Acidose tritt auf, da der Verlust von Natrium größer ist als von Chlor, der Rest-N steigt. Änderungen im Wasserhaushalt bewirken eine Bluteindickung mit relativer Polyglobulie und vermehrter Viskosität. Die Kohlehydratstoffwechselveränderung zeigt sich durch leicht erniedrigten Blutzucker, durch erhöhte Insulin- und verminderte Adrenalinempfindlichkeit. Der Glykogengehalt der Leber ist reduziert und der des Muskels ist nach Arbeitsleistung vermindert und wird nur zögernd ersetzt.

Zur Erklärung dieser Erscheinungen hat man jede einzelne Störung, die man beobachtete, als das Primäre aufgefaßt, also entweder die Veränderungen des Mineralstoffwechsels oder die des Kohlehydratstoffwechsels oder die Änderungen der Permeabilität. Diese Theorien werden durch Verzár ausführlich besprochen und kritisiert. Er selbst hält eine allgemeine Stoffwechselstörung der Zellen für das Wesentliche, und zwar die Störung der Phosphorylierung, die er zunächst bei der Resorption der

* D 7.

Kohlehydrate und Fette nachweisen konnte, so daß der Wiederaufbau der Zucker in der Zelle gehemmt ist, wenn Nebennierenhormon fehlt. Sodann würde aber die Hemmung der Phosphorylierung auch den Aufbau der Vitamine der B-Gruppe zu den Co-Fermenten stören, wodurch sich weiterhin Änderungen im Stoffwechsel der Zelle und sekundär Störungen der Permeabilität ergeben.

Wir haben nun versucht, an einigen Modellversuchen den Einfluß von Cortidyn auf die Permeabilität festzustellen. Dabei können diese Versuche nicht die Frage entscheiden, ob die Permeabilitätsänderungen einen primären Einfluß auf die Zellmembran darstellen oder sekundär durch Änderungen des Stoffwechsels in der Zelle bedingt sind. Ob die Verschiebungen des Cholesterins, wie sie von Thaddea und Faßhauer (3) und von Yeakel und Blanchard (4) am Ganztier gefunden wurden, bei unseren Versuchen eine ausschlaggebende Rolle spielen, ist ebenfalls nicht zu entscheiden.

Einfluß des Cortidyns auf die Hämolyse durch Hypotonie.

Die erhöhte Resistenz der Erythrocyten bei Nebenniereninsuffizienz leitete an zu dem ersten Versuch, ob eine Änderung der Resistenz der roten Blutkörper (Schweineblut) in Kochsalzlösung bei Zugabe von Cortidyn und bei den Beziehungen von Nebennierenrindenhormon zum Kohlehydratstoffwechsel in Traubenzuckerlösungen eintreten würde. Es wurden verschieden starken Kochsalzlösungen von 0,4—0,8 % in Parallelversuchen immer größer werdende Mengen von Cortidyn zugegeben, wozu jeweils mit der Pipette 2 Tropfen Schweineblut kamen. Dabei trat, wie aus nachstehendem Versuch zu ersehen ist, bei 0,7 % Kochsalz Hämolyse ein. Bei stärkerer Zugabe von Cortidyn dagegen war keine Hämolyse festzustellen. Ähnlich war es bei 0,6 % Kochsalzlösung, wo starke Hämolyse der roten Blutkörperchen einsetzte, und wo mit Cortidyn nur ein ganz leicht hellgelber Schimmer auftrat. Es zeigte sich also, daß Cortidyn in hypotonischer Kochsalzlösung hämolysehemmend wirkt. (Kochsalzlösung in ccm, ebenso Cortidynzusatz in ccm einer 0,4 % NaCl mit 0,1 ccm Cortidyn auf 100 bzw. 0,45 % NaCl + ccm einer Lösung von 0,1 ccm Cortidyn/100 ccm 0,45 % NaCl usf.)

Dieselbe Methode wurde auch bei der zweiten Versuchsreihe mit Traubenzuckerlösung angewandt, wobei 1—4 %ige Lösungen benutzt wurden. In 3 %iger Traubenzuckerlösung zeigte sich eine durch leicht gelbliche Verfärbung sichtbare Hämolyse, die im Parallelversuch mit Cortidyn bis zur rosa Farbe verstärkt wurde. Eine ebenfalls vergleichsweise angesetzte Reihe von 2,1—3,5 %, ohne und mit Cortidyn, veranschaulichte sehr deutlich, daß die Traubenzuckerlösungen ohne Cortidyn immer heller waren. Diese Farbunterschiede wurden eindeutig mit dem Hämoglobinometer nach Bürker bestätigt und auch zahlenmäßig festgelegt. Im Gegensatz zur Kochsalzlösung wirkte Cortidyn in Traubenzuckerlösung hämolysefördernd.

Kochsalzlösung:

0,45%:
10 + 0 bis 1 + 9: kirschrot, kein Bodensatz.

0,5%:
10 + 0 bis 1 + 9: hellrot, etwas Bodensatz.

0,6%:
10 + 0: kirschrot, Bodensatz.
9 + 1: heller, Bodensatz stärker.
8 + 2: „ „ „
7 + 3: „ „ „
6 + 4: „ „ „
5 + 5: „ „ „
4 + 6: „ „ „
3 + 7: „ „ „
2 + 8: „ „ „
1 + 9: „ „ „

0,65%:
10 + 0: hellrosa, Bodensatz.
9 + 1: hellgelb, Bodensatz.
8 + 2: immer heller.
7 + 3: „ „
6 + 4: „ „
5 + 5: „ „
4 + 6: „ „
3 + 7: „ „
2 + 8: „ „
1 + 9: fast farblos.

0,7%:
10 + 0:
9 + 1:
8 + 2:
7 + 3:
6 + 4:
5 + 5:
} hellgelb, etwas rötlich, Bodensatz
4 + 6: hellgelb, Bodensatz.
3 + 7: farblos, Bodensatz.
2 + 8: „ „
1 + 9: „ „

0,8%:
10 + 0 bis 1 + 9: wasserhell, starker Bodensatz.

Traubenzuckerlösung:

1%:
10 + 0 bis 1 + 9: rot, kein Bodensatz.

2%:
10 + 0 bis 1 + 9: rot, kein Bodensatz.

3%:
10 + 0: hellgelb, Bodensatz stark
9 + 1: etwas rötlich.
8 + 2: rötlicher.
7 + 3: „
6 + 4: „
5 + 5: „
4 + 6: „
3 + 7: „
2 + 8: „
1 + 9: hellrosa, Bodensatz.

4%:
10 + 0 bis 1 + 9: wasserhell, starker Bodensatz.

	Ohne Cort.	Mit Cort. (0,1/100).
2,1%:	rotviolett	dunkelviolett
2,2%:	„	„
2,3%:	„	„
2,4%:	„	rotviolett
2,5%:	„	„
2,6%:	hellrotviolett	„
2,7%:	„	„
2,8%:	rosa	hellrotviolett
2,9%:	rosagelb	„
3,1%:	hellgelb	rosa
3,2%:	wasserhell	„
3,3%:	„	rosagelb
3,4%:	„	hellgelb
3,5%:	„	wasserhell

Farbe kolorimetriert:

2,4%	mit Cortidyn	1,29	mal	so	dunkel.
2,5%	„ „	1,82	„	„	„
2,6%	„ „	1,34	„	„	„
2,7%	„ „	1,49	„	„	„
2,8%	„ „	1,43	„	„	„
2,9%	„ „	1,50	„	„	„

Einfluß von Cortidyn auf die Quellung der Blutkörperchen.

Diese beiden Versuche zeigen sehr klar einen Unterschied in der Hämolyse ohne und mit Cortidyn. Dies könnte an einer veränderten Quellung oder einer Membranveränderung liegen. Denn man sieht in

etwas hypotonen Lösungen zunächst die Blutkörperchen quellen, bei stärkerer Hypotonie platzen. Die Größe der Blutkörperchen kann man durch die Höhe der Blutsäule messen, die man durch Zentrifugieren in einer Kapillare erhält (Hämatokritmethode).

Diese Methode ergibt, daß bei schwacher Hypotonie der Lösung ein Unterschied der Blutsäulen in den Lösungen mit und ohne Cortidyn nicht ergibt, weder bei hypotonischen Kochsalz- noch Zuckerlösungen.

Zwischen die hämolysierenden Lösungen und die nichthämolysierenden schiebt sich nun ein Gebiet von Lösungen ein, welche nur zum Teil eine Hämolyse veranlassen. Es ist dann die Lösung rötlich oder rot gefärbt, aber es ist am Grunde noch ein Bodensatz, hier nach dem Zentrifugieren also eine Blutsäule vorhanden. Eine solche partielle Hämolyse entsteht durch das Platzen einer bestimmten Zahl von Blutkörperchen, während der Rest dem osmotischen Überdruck im Innern noch stand hält. Man nimmt an, daß die älteren Blutkörperchen eine starre und weniger dehnbare Membran besitzen, während die jungen Blutzellen eine elastischere Zellhaut besitzen, also gegen die Hypotonie widerstandsfähiger sind.

Setzt man zu solchen partiell hämolysierenden Lösungen Cortidyn zu, so ergibt sich ein Unterschied zwischen den Blutsäulen: In Kochsalzlösungen mit Cortidynzusatz sind die Säulen höher, die darüberstehende Flüssigkeit weniger rot als die Kontrollen (die immer in demselben Gang zentrifugiert wurden); d. h. es sind weniger Blutkörperchen geplatzt und daher ist der Bodensatz höher. Eine stärkere Quellung würde freilich auch die Blutsäule erhöhen, aber eine stärkere Quellung würde die Hämolyse vermehren, was nicht der Fall ist. Es besteht also die Wirkung des Cortidyns in einer Verfestigung der Wand, nicht in einer Änderung der Quellung des Blutkörpercheninhalts.

Das Umgekehrte findet in hypotonen Zuckerlösungen statt: Hier ist die Blutsäule kleiner bei Cortidynzusatz, es sind mehr Blutzellen geplatzt.

In stärkeren Lösungen, die nicht mehr hämolysieren, hat wie erwähnt, Cortidynzusatz keinen Einfluß auf die Höhe der Blutsäule. Ein weiterer Beweis, daß nicht der Quellungszustand der Erythrocyten beeinflußt wird, sondern nur die Widerstandsfähigkeit der Haut (s. S. 429).

Einfluß des Cortidyns auf den Quellungszustand der Froschmuskeln.

Es wurden die beiden Sartorien eines Frosches in Ringerlösung mit und ohne Cortidynzusatz gelegt, und ihr Gewicht verfolgt, also eine Methode angewandt, mit welcher Klünder (5) (I. D. Göttingen 1935) die entquellende Wirkung des Thyreoidins nachwies. Dabei wurde isotonische Ringersche Flüssigkeit, wie auch hypotone und hypertone Lösungen angewandt. Dabei zeigte sich kein Unterschied gegen die Kontrollen, weder in den verschiedenen Konzentrationen noch beim Vergleich der Geschwindigkeit der Veränderungen; rechnet man die prozentuale

Messung der Quellung der Erythrocyten in NaCl-Lösung und $C_6H_{12}O_6$-Lösung mit und ohne Cortidyn.

A. Kochsalzlösungen.

	Ohne Cortydin	Mit Cortydin		Ohne Cortidyn	Mit Cortidyn
a) 0,5%:			a) 0,6%:		
	27,5	29!		54	54
	28	30		57	50
b) 0,55%			b) 0,65%		
	30	36!		56,8	56,5
	33	36		55,5	56,5
c) 0,6%:			c) 0,68%:		
	48	46		53	53,5
	43	43		55	55
d) 0,65%:			d) 0,7%:		
	52	50		52	53
	49	51		55	51
e) 0,7%:			e) 0,75%:		
	50,2	47,5		50	51
	47,5	49		50,5	52
			f) 0,8%:		
				46	48
				49	47

B. Zuckerlösungen.

	Ohne Cortydin	Mit Cortydin
a) 2,5%:		
	Hämolyse	Hämolyse
b) 2,8%:		
	40,5	38!
	40,5	37,5
c) 3%:		
	44	45
	43,5	44
d) 3,5%:		
	40,5	40,5
	40,5	39,5
e) 4%:		
	34	34,5
	34,5	34,5

Gewichtsveränderung zu den verschiedenen Zeiten aus, so stimmen die Muskelgewichte in Prozenten des Anfangsgewichtes genau überein.

Also hat gerade so wie bei den Blutkörperchen, auch am Muskel das Cortidyn keinen Einfluß auf den Quellungszustand.

Im Gegensatz dazu konnte Monauni (6) eine erhöhte Wasserdurchlässigkeit von Muskelmembranen nach Nebennierenexstirpation zeigen. Auch Thaddea (1) (S. 47) fand bei nebennierenlosen Katzen die Muskulatur wasserreicher als vor der Operation, eine Erscheinung, die sich durch Nebennierenrindenhormon verhindern ließ.

Es ist also eine derartige Wirkung nur am Ganztier, nicht am isolierten Muskel eines normalen Frosches nachweisbar.

Gewichtsveränderungen von Froschmuskeln in Froschringer mit und ohne Cortydin — es werden die Sartorien eines Frosches miteinander verglichen —.

	Ohne Cortydin	Mit Cortydin	
1.	322 mg	319 mg	(150 ccm Froschringer + 50 ccm Aqua dest.)
	338 „	341 „	nach 14 Stunden (+ 0,2 ccm Cortidyn)
	346 „	355 „	„ 20 „
	364 „	370 „	„ 30 „
2.	230 „	219 „	
	242 „	234 „	„ 14 „
	243 „	267 „	„ 20 „
	252 „	238 „	„ 30 „
3.	195 „	228 „	
	204 „	235 „	„ 14 „
	210 „	237 „	„ 20 „
	212 „	234 „	„ 30 „
4.	211 „	208 „	(100 ccm Froschringer + 0,1 ccm Cortidyn)
	216 „	212 „	nach 3 Stunden
	241 „	243 „	„ 20 „
5.	147 „	156 „	
	150 „	168 „	„ 3 „
	172 „	178 „	„ 20 „
6.	232 „	234 „	$1^1/_2$ Froschringer (100 ccm + 0,1 ccm Cortidyn)
	220 „	218 „	nach 1 Stunde
	258 „	266 „	„ 18 Stunden
7.	182 „	173 „	$1^1/_2$ Froschringer (100 ccm + 0,1 ccm Cortidyn)
	162 „	162 „	nach 1 Stunde
	200 „	191 „	„ 18 Stunden

Einfluß des Cortidyns auf die Arbeit des Froschmuskels.

Besonders auffallend ist bei Nebenniereninsuffizienz die allgemeine Hinfälligkeit, die Muskelschwäche und das Muskelzittern des Patienten. Beim Muskel ist, wie anfangs gesagt, der Glykogengehalt nach Arbeitsleistung vermindert und wird verzögert ersetzt. Es lag also nahe, die Wirkung des Cortidyns auf die Kontraktionen des Muskels zu untersuchen. Dazu wurden die beiden Sartorien eines Frosches an Hebeln befestigt, die ihre Kontraktionen übereinander auf dem Kymographion aufschrieben; sie wurden durch Öffnungsinduktionsschläge unter Abblendung der Schließungsschläge in der Weise gereizt, daß der Strom erst durch den einen Muskel, dann durch den anderen ging; angewandt wurden maximale Reize in ermüdender Frequenz. In Lösungen von 1 : 100 und 1 : 1000 (Cortidynflüssigkeit auf Ringerlösung) zeigte sich dabei kein Unterschied der Kurven.

Einfluß des Cortidyns auf die Monojodessigsäurevergiftung des Muskels.

Nach Lundsgaard (7) (Untersuchungen über Muskelkontraktionen ohne Milchsäurebildung) greift die Monojodessigsäure in die Phosphorylierungsvorgänge ein, die zu Umsetzungen im Muskelstoffwechsel nötig sind. Auch die im Muskelstoffwechsel wichtige Bildung des gelben Atmungsferments aus Flavin wird verhindert. Cortin dagegen bewirkt nach Verzár (8) (Die Rolle von Lactoflavin und Flavinphosphorsäure bei Nebennierenrindenausfall sowie Jodessigsäurevergiftung) die Phosphorylierung der Hexose, und er erklärt die Muskeladynamie bei Nebenniereninsuffizienz durch das Ausbleiben dieses Vorganges. Daher versuchte ich die Schädigung des Muskels durch Monojodessigsäure durch Cortidynzusatz wieder aufzuheben.

Es zeigte sich aber, daß die Kontraktur durch Monojodessigsäure (100 mg: 250 ccm Ringerlösung) nach 10 Minuten beginnend und sich nach etwa 40–50 Minuten zu vollständiger Starre steigernd, durch die gleichzeitige Einwirkung von Cortidyn in keiner Weise geändert wurde. Dabei wurde Cortidyn in Mengen von 0,1, 0,2, 0,4, 0,5 und 1,0 ccm zu 100 ccm Lösung zugegeben. Nur einmal war eine Förderung der Muskeltätigkeit bei ermüdenden Reizen zu sehen, in der Mehrzahl der Versuche aber nicht.

Es ließ sich also eine Aufhebung der Monojodessigsäurevergiftung des Muskels durch Cortidyn nicht erreichen.

Einfluß des Cortidyns auf den Durchtritt von Farbstoffen durch die Froschhaut.

Um die Durchlässigkeit der Froschhaut für Farbstoffe bei Anwesenheit von Cortidyn zu untersuchen, wurden die Häute der Hinterbeine von Fröschen nach Unterbindung des Rectums abgezogen, mit Flüssigkeit gefüllt und in Lösungen hineingehängt. Der Farbstoff kam immer innen hinein, nur wurde im Parallelversuch die Froschhaut umgestülpt, so daß die Innenfläche nach außen zeigte. Dabei tritt Methylenblau von innen nach außen, aber nicht umgekehrt, Tropäolin dagegen nur von außen nach innen. Der Zusatz von Cortidyn erwies sich am Methylenblau als unwirksam, beim Tropäolin hemmte es den Durchtritt.

Methylenblau: 1 : 1000 in Froschringer; Froschhose äußere Wand innen: ohne Cortidyn kein Durchtritt, mit Cortidyn kein Durchtritt. — Äußere Wand außen: ohne Cortidyn Durchtritt, mit Cortidyn Durchtritt.

Tropäolin: 1 : 1000 in Froschringer; Froschhose äußere Wand innen: ohne Cortidyn Durchtritt, mit Cortidyn kein Durchtritt. — Äußere Wand außen: ohne Cortidyn kein Durchtritt, mit Cortidyn kein Durchtritt.

Einfluß des Cortidyns auf den Durchtritt von Farbstoff und Wasser durch die Froschkapillaren.

Im Mittelpunkt längerer Untersuchungen stand dann die Wirkung des Cortidyns auf die Permeabilität der Froschgefäße und auf vermehrte oder verminderte Aufnahme von Farbstoff im Froschdurchströmungsversuch. Als Farbstofflösungen wurden dazu Methylenblau, Tropäolin, Eosin und May-Grünwaldsche Flüssigkeit benutzt. Nachdem der Frosch nach Durchbohrung des Rückenmarkes und Zerstörung des Gehirns getötet worden war, wurde das Herz frei präpariert und vom Ventrikel aus eine Kanüle in die Aorta eingeführt. Nun wurden die Frösche zunächst 10 Minuten lang mit Ringerscher Flüssigkeit durchspült (wobei das Froschgewicht zunahm) und anschließend Farbstofflösung mit und ohne Cortidyn in Parallelversuchen durchgeströmt. Die durch den Frosch gelaufene Flüssigkeit wurde aufgefangen, in Zeitabständen von 5 Minuten die Menge gemessen, die Zunahme des Froschgewichts festgestellt und die Farbdichte des Durchflusses bestimmt. Schwierigkeit machte die Bestimmung der Farbdichte, die in den ersten Versuchen mit dem Hämoglobinometer nach Bürker vorgenommen wurde. Dabei konnte kein rechtes Ergebnis erzielt werden, da organische Bestandteile die durchgeströmte Flüssigkeit trübten. Bei weiteren Versuchen gelang es jedoch, dieser Schwierigkeit Herr zu werden, die Zentrifuge beseitigte alle Trübungen, und mit dem Stufenphotometer ließen sich die genauen Farbunterschiede leicht bestimmen. Nun konnte die Konzentration und die vom Frosch aufgenommene Farbmenge in Gamma errechnet und die Werte in Kurven dargestellt werden. In allen Versuchen kamen auf 100 ccm Farbstofflösung 0,5 ccm Cortidyn.

Die im Frosch verbliebene Farbstoffmenge erhält man durch Abzug der Menge des Farbstoffs, die mit der ausfließenden Flüssigkeit den Frosch wieder verläßt, von der einlaufenden Menge; dazu müßte eigentlich zur Durchflußmenge die Gewichtszunahme des Frosches (Ödem) addiert werden, denn es ist ja mehr eingeflossen als ausgeflossen. Berücksichtigt man nur die Farbstoffmengen, die sich aus der Konzentrationsabnahme der durchgelaufenen Flüssigkeit ergeben, so erhält man ähnliche Werte. Die Konzentrationen der Flüssigkeiten wurden aus den Extinktionskoeffizienten der Flüssigkeiten berechnet, nachdem der Extinktionskoeffizient der Ausgangslösung bestimmt war.

Ein Zurückhalten von Farbstoff kann nun auf verschiedene Weise erfolgen. Hier wird nur von der im Frosch zurückbleibenden Farbstoffmenge gesprochen. Man könnte meinen, dadurch die Durchlässigkeit der Kapillarwand gemessen zu haben, wird aber in der Deutung vorsichtig sein müssen. Es könnte ja auch eine Adsorption an der Kapillarwand stattgefunden haben, ohne daß dieser Teil des Farbstoffs wirklich die Kapillarwand passiert hätte. Und es können sekundäre Vorgänge den Durchtritt modifizieren, auch wenn er selbst in derselben Weise, z. B. durch einfache

Tabelle

Frosch g	Durchfluß ccm/5 Min.	Auslauf mg%	Retinierter Farbstoff γ	Frosch g	Durchfluß ccm 5 Min.	Auslauf mg%	Retinierter Farbstoff γ
25 g: Methylenblau 0,001%:				20 g; Methylenblau + Cortidyn:			
32				47			
35	20	0,143	171	52	10	0,15	85
40	20	0,122	176	55	15	0,179	123
42	18	0,149	153	58	14	0,242	106
42	15,5	0,143	122	59	14,5	0,263	107
45	14,5	0,183	118	60	13	0,242	99
45	10	0,149	85	60	12	0,273	88
45	8,5	0,183	69	60	10,5	0,263	87
			894				695
30 g; Methylenblau 0,001%:				28 g; Methylenblau + Cortidyn:			
70				52			
72	13,5	0,109	120	55	14	0,167	117
75	14,5	0,18	119	58	14	0,167	117
77	15,5	0,18	127	60	13,5	0,178	111
78	15	0,23	116	60	11	0,178	100
78	14	0,2	112	63	11	0,189	89
78	14	0,25	105	66	11,5	0,267	74
78	12	0,19	97	66	10	0,267	73
			796				681
25 g; Tropäolin 0,001%:				28 g; Tropäolin + Cortidyn:			
47				70			
52	9	0,229	69	72	8	0,217	63
55	10	0,306	69	78	12	0,29	85
60	11	0,34	72	80	12,5	0,25	84
61	10	0,316	68	82	11	0,46	59
63	11	0,36	70	82	5		28
63	10,5	0,42	61	84	12	0,42	70
63	10,5	0,44	59	87	14	0,34	92
			468				481
28 g; Tropäolin 0,001%:				28 g; Tropäolin + Cortidyn:			
52				58			
60	11	0,29	78	63	7	0,29	50
66	13,5	0,32	92	66	9	0,33	60
70	14	0,36	90	72	12,5	0,31	86
72	15	0,46	81	73	12	0,68	38
75	15	0,48	78	73	12	0,38	74
80	14,5	0,54	67	75	12	0,35	78
80	14,5	0,568	51	75	11,5	0,38	71
			537				457
30 g; Eosin 0,1%:				28 g; Eosin + Cortidyn:			
45				47			
52	7	38	4340	55	8,5	30	5950
55	7	52	3360	57	9,5	48	4940
58	5	61	1950	60	8	56	3520
60	4	74	1040	60	8	68	3720
62	4,5	80	900	60	8	63	2960
63	4	70	1200	60	8	63	2960
65	4	70	1200	60	7,5	63	2775
			13990				25825

Tabelle (Fortsetzung)

Frosch g	Durchfluß ccm/5 Min.	Auslauf mg %	Retinierter Farbstoff γ	Frosch g	Durchfluß ccm/5 Min.	Auslauf mg %	Retinierter Farbstoff γ
32 g; Eosin 0,1%:				40 g; Eosin + Cortidyn:			
56				47			
62	7	24	5320	53	13,5	46	7290
65	5,5	36	3520	56	11	65	3850
66	5	60	2000	57	10	65	3500
66	4	58	1680	60	9	73	2430
66	5	80	1000	60	8	77	1840
66	4	63	1480	60	6	75	1500
66	4	58	1680	60	7,5	73	2025
			16680				22435

Diffusion, vor sich ginge. Denn der ausgetretene Farbstoff kann im Frosch verschiedene Bedingungen der Festlegung vorfinden, wiederum Stellen, an denen er adsorbiert wird, ohne daß er in die Zellen eindringt. Und endlich können in der Zelle selbst Affinitäten für den Farbstoff vorhanden sein, die ihn etwa in Form von Granulis speichern. Man wird also gut tun, nur beschreibend die Menge Farbstoff zu behandeln, die im Frosch verblieben ist; man kann aber aus diesen Versuchen weder auf die reine Durchlässigkeitsveränderung der Kapillarwand noch auf Speicherungsvorgänge schließen.

Der erste Farbstoff, der benutzt wurde, war Methylenblau 1 : 1000 in Froschringer gelöst. Der Durchfluß, das Gewicht sind von Cortidyn kaum beeinflußt worden. Die Farbstoffaufnahme jedoch, das ist aus nachstehenden Versuchen klar zu ersehen, wird von Cortidyn gehemmt. Vom Frosch wurden ohne Zusatz in beiden Versuchen zusammen 1691 γ und mit Zusatz von Cortidyn nur 1377 γ aufgenommen, also rund 300 γ weniger. Folglich hemmt Cortidyn den Durchtritt von Methylenblau durch die Froschgefäße.

Bei Tropäolin ist kein eindeutiges Ergebnis mit Cortidyn festzustellen gewesen. Auffallend ist das ständige Abfallen der Werte der im Frosch verbleibenden Farbmenge ohne Cortidyn und bei Zugabe die starken Schwankungen in der Farbstoffaufnahme und die gegen Ende des Versuchs einsetzende starke Zunahme. So scheint doch die Aufnahme von Tropäolin etwas gefördert zu werden.

Als dritter Farbstoff kam Eosin an die Reihe. Die Aufnahme von Farbstoff betrug in beiden Versuchen zusammen 30670 γ. Im Parallelversuch mit Cortidyn wurden vom Farbstoff 48260 γ aufgenommen.

Bei May-Grünwaldscher Farblösung (0,01 % Methylenblau 1 : 1 Eosin 0,01 %) empfahl es sich, für den blauen Anteil des Farbstoffs zur Bestimmung der Farbdichte ein Gelbfilter zu nehmen, für den roten Anteil ein Grünfilter. Wiederum zeigt sich sehr schön sichtbar auf der Kurve für Methylenblau, daß ohne Cortidyn weit mehr Farbstoff im Frosch verblieben ist

— 14098 : 10869 γ . Der Eosinanteil zeigt keine besonderen Abweichungen. Weder Farbstoffaufnahme, noch Gewicht, noch Gesamtdurchfluß weisen Änderungen durch Cortidyn auf. (Die Einzelzahlen der Versuche, die ganz wie die aufgeführten ausgeführt wurden, lauten: retiniertes Methylenblau 7524 γ im ersten Versuch, im zweiten 6573 γ; von Eosin wurde zurückgehalten: 3152 und 2463 γ. In den beiden Versuchen mit Cortidyn wurde Methylenblau retiniert: 5582 und 5286 γ und vom Eosin 2202 und 3059 γ.)

Vergleich der Cortidynwirkung mit dem Einfluß des Harnstoffs auf die Permeabilität.

Die von Heim (9) (Der Einfluß des Harnstoffs auf die Quellung und Permeabilität von Froschmuskulatur) festgestellte Tatsache, daß auch Harnstoff starken Einfluß auf die Permeabilität der Muskelmembranen hat, es steigert die Wasserpermeabilität besonders in kleinen Konzentrationen (0,1—0,5 %) bis zum 22fachen, war die Veranlassung, statt Cortidyn die Wirkung des Harnstoffs im Durchströmungsversuch zu prüfen.

Harnstoff förderte sowohl den Durchtritt von Methylenblau als auch von Tropäolin durch die Gefäße.

Die Zahlenwerte der analog den oben ausführlich geschilderten Versuche sind: Methylenblau (0,001 %) + Harnstoff (0,5 %) retinierte Menge 796 und 1058 γ; Tropäolin (0,001 %) + Harnstoff (0,5 %) 735 und 638 γ, also mehr als in den früheren Doppelversuchen ohne Cortidyn. (Bemerkenswert ist vielleicht das Verhalten des Froschödems; das Froschgewicht nahm in allen früheren Versuchen — mit und ohne Cortidyn — durchschnittlich um 126 % zu, mit Harnstoff durchschnittlich um 129 %; der Harnstoffzusatz hat also keinen Einfluß auf den Flüssigkeitsaustritt aus der Gefäßbahn gehabt.) Dagegen ist mehr Flüssigkeit (pro g Frosch) durchgeflossen (3,77 ccm mit Harnstoff gegen 2,85 ccm ohne).

Anhang: Übersicht über die aufgenommenen Farbstoffmengen mit und ohne Cortidyn.

Die den Durchtritt durch die Gefäßwand hemmende Wirkung des Cortidyns zeigt sich also sowohl bei der Durchströmung mit reiner Methylenblaulösung (in geringer Konzentration) wie auch bei Anwendung des Farbstoffgemisches (May-Grünwaldsche Lösung) in hoher Konzentration.

Cortidyn fördert den Durchtritt von Eosin, wenn es allein in hoher Konzentration gegeben wird; dagegen ist ein Unterschied im Zurückhalten von Eosin aus der May-Grünwaldschen Farblösung, in der es in nur geringer Konzentration enthalten ist, kaum zu konstatieren.

Tropäolin wird bei seinem Durchtritt durch die Gefäßwand durch Cortidyn nicht beeinflußt.

Gesamtmenge des bei der Durchströmung im Frosch verbliebenen Farbstoffs.

	Ohne Cortidyn		Mit Cortidyn
Methylenblau (0,001%)	895		695
	796		681
	1691	>	1376
Tropäolin (0,001%)	470		481
	536		458
	1006	~	939
Eosin (0,1%)	13990		25825
	16680		22435
	30670	<	48260
May-Grünwald (Methylenblau 0,01%)	7525		5582
	6573		5287
	14098	>	10869
May-Grünwald (Eosin 0,01%)	3152		2203
	2463		3059
	5615	~	5262

			Mit Harnstoff
Methylenblau (0,001%)	895		1058
	796		796
	1691	<	1854
Tropäolin (0,001%)	470		735
	536		638
	1006	<	1373

Einfluß des Cortidyns auf den Durchfluß beim Durchströmungsversuch und die Entwicklung des Ödems.

Der Froschdurchströmungsversuch ist von Läwen (10) und Trendelenburg (11) zur Prüfung gefäßverengernder Stoffe angegeben worden. Zählt man die durchgeflossenen Mengen aller Versuche zusammen, so ergibt sich ohne Cortidyn 661,5 ccm und mit Cortidyn 654 ccm, oder pro g Frosch ohne Cortidyn 2,81 ccm und mit Cortidyn 2,89 ccm; auf die Gefäßweite hat also Cortidyn keinen Einfluß. (Dagegen ergibt sich mit Harnstoff pro g Frosch ein Durchfluß von 3,77 ccm.)

Es fehlt aber auch jeder Einfluß auf den Flüssigkeitsaustritt aus den Gefäßen, auf die Ausbildung des Ödems, wie es beim Fehlen der Kolloide in der Ringerlösung auftreten muß. Addiert man die prozentuale Zunahme des Froschgewichtes (in % des Anfangsgewichtes) zusammen, so erhält man ohne Cortidyn 1005% und mit Cortidyn 1033%, oder durchschnittlich für den Frosch eine Gewichtszunahme von 126% ohne Cortidyn und von

129 % mit Cortidyn. Es hat sich also ein permeabilitätssteigernder Einfluß nicht gezeigt, wie auch kein solcher in hemmender Richtung. Ebenso schließt diese Tatsache einen Einfluß auf die Quellung der Gewebe aus, wie wir ihn ja auch in anderen Versuchen vermißten (Erythrocyten, Muskeln). (Auch Harnstoff beeinflußt den Austritt von Flüssigkeit aus den Gefäßen nicht: Die Gewichtszunahme des Frosches beträgt nach Durchströmung mit Harnstoff durchschnittlich 129 % des Anfangsgewichts.)

Schluß.

Das Nebennierenrindenhormon, wie es in Form des Cortidyns vorliegt, hemmt die Hämolyse durch hypotone Kochsalzlösung, befördert sie aber in hypotoner Zuckerlösung; dies muß eine Membranwirkung sein, denn der Quellungszustand der Erythrocyten wird nicht beeinflußt. Ebenso besitzt das Cortidyn keinen Einfluß auf den Quellungszustand der Froschmuskeln (wie etwa das Thyroxin). Auf die Tätigkeit des normalen Froschmuskels hat Cortidyn keinen Einfluß, ebensowenig auf den mit Monojodessigsäure vergifteten. — Dagegen wird der Durchtritt von Tropäolin durch die Froschhaut von außen nach innen verhindert, während das Nebennierenrindenhormon auf den Durchtritt von Methylenblau keinen Einfluß ausübt. Beim Durchströmungsversuch am Frosch hemmt Cortidyn die Aufnahme von Methylenblau, befördert aber die Aufnahme von Eosin durch den Frosch. Harnstoff (zum Vergleich) vermehrte die Aufnahme von Eosin und Tropäolin. Dagegen erwies sich Cortidyn als wirkungslos auf den Wasserdurchtritt durch die Kapillaren im Durchströmungsversuch, also auf die Ödembildung oder die Durchflußmenge.

Es ist also der Einfluß des Nebennierenrindenhormons auf die Permeabilität kein einheitlicher; es ist aber vielleicht von Wichtigkeit, daß sich Beispiele für eine derartige Membranwirkung des Cortidyns haben auffinden lassen.

Zusammenfassung.

Cortidyn wirkt in hypotonen Kochsalzlösungen hämolysefördernd, in Traubenzuckerlösungen hämolysehemmend; die Wirkung muß eine Membranwirkung sein, keine auf den Quellungszustand, wie die Hämatokritversuche lehren.

Der Quellungszustand von Froschmuskeln in hypotonen, isotonen und hypertonen Lösungen wird durch Cortidan nicht beeinflußt.

Die Monojodessigsäurevergiftung des Muskels wird durch Cortidyn nicht aufgehoben, die normale Tätigkeit des isolierten Muskels nicht geändert. Cortidyn verhindert den Durchtritt von Tropäolin durch die Froschhaut von außen nach innen; bei Methylenblau ist es unwirksam.

Im Durchströmungsversuch des Frosches hemmt Cortidyn die Aufnahme von Methylenblau, fördert die von Eosin und ist Tropäolin gegenüber wirkungslos. (Harnstoff dagegen fördert den Durchtritt von Methylenblau

und Tropäolin durch die Kapillarwand.) Einen Einfluß auf die durchfließende Flüssigkeitsmenge, auf die Ausbildung des Ödems hat Cortidyn in solchen Durchströmungsversuchen nicht.

Literatur.

1) Thaddea: Die Nebennierenrinde. Leipzig, Thieme, 1936. — 2) Verzár: Die Funktion der Nebennierenrinde. Basel, Schwabe, 1939. — 3) Thaddea u. Faßhauer: Erg. inn. Med. **54**, 753 (1938). — 4) Yeakels u. Blanchard: J. biol. Chem. (Am.) **123**, 31 (1938); Ber. Physiol. **109**, 606 (1939). — 5) Klünder: Inaug.-Diss. Göttingen, 1935. — 6) Monauni: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **140**, 306 (1928). — 7) Lundsgaard: Biochem. Z. **217**, 162 (1930); **227**, 51 (1930). — 8) Verzár: Z. Vitaminforsch. (Schwz.) **5**, 265 (1936). — 9) Heim: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 1 (1939). — 10) Läwen: Ebenda **51**, 415 (1904). — 11) Trendelenburg: Ebenda **63**, 161 (1910).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über die Beziehungen der Cholinesterase zur Muskelkontraktion.

Von

Veniamin Runcan, Bukarest.

(Eingegangen am 6. Juni 1940.)

I.

Acetylcholin und Sympathin gelten heute als Vermittler zwischen Nervenendigungen und Erfolgsorganen. Für deren Tätigkeit ist aber auch die Zerstörung dieser Vermittler wichtig, die den Organen erlaubt, sich ihrem Einfluß zu entziehen und dann mit neuen in Freiheit gesetzten Mengen zu reagieren.

Die Zerstörung des Acetylcholins ist nach Loewi und seinen Mitarbeitern (1) ein Abbau auf fermentativem Wege, nämlich eine Verseifung durch Cholinesterase. Die Tätigkeit der Organe mit cholinergischer Innervation ist also nach unserer heutigen Vorstellung die Folge der Wirkung des in Freiheit gesetzten Acetylcholins auf Zellen und Organe, bevor dieser Vermittler durch das Ferment inaktiviert wird. Die mehr oder weniger starke Tätigkeit der Organe steht somit in Verbindung mit den mehr oder weniger großen Mengen des in Freiheit gesetzten und noch nicht angegriffenen Acetylcholins.

So verstanden, erscheint das Problem der neuro-chemischen Übertragung mehr und mehr mit dem Problem des Abbaus der chemischen Vermittler, d. h. also der fermentativen Wirksamkeit der Organe verknüpft.

Man kann sich logischerweise fragen, ob die Organe von der Seite des fermentativen Abbaus über eine physiologische Anpassung an die quantitativen Schwankungen des freigesetzten Acetylcholins verfügen. Setzen die Organe einer Menge von $x\,\gamma$ und $10\,x\,\gamma$ Acetylcholin die gleiche fermentative Abbaufähigkeit entgegen oder passen sie ihr Abbauvermögen gegenüber dem Acetylcholin den mehr oder weniger großen Mengen dieser Substanz an, die mit einer bestimmten Geschwindigkeit zerstört werden müssen?

Stellt man sich z. B. nur die willkürlichen Muskeln in Ruhe und Kontraktion vor, also zwei Zustände, die mit verschiedenen Mengen Acetylcholin verknüpft sind, so wäre zu fragen, ob die Zerstörung dieser verschiedenen Mengen von Vermittler durch das gleiche fermentative Vermögen bewirkt wird. A priori könnte man an zwei Möglichkeiten denken. Ent-

weder ist in den Muskeln Cholinesterase dauernd in ausreichender Menge gegenwärtig, um den physiologischen Veränderungen des jeweils freigesetzten Acetylcholins in jedem Falle Rechnung zu tragen oder die Muskeln können ihr fermentatives Vermögen nach Bedürfnis vermehren, sei es durch Erzeugung neuer Fermentmengen, sei es durch Aktivierung schon vorhandenen Ferments, sei es endlich durch Fermentaufnahme aus dem kreisenden Blute.

In Arbeiten aus jüngster Zeit wurde bereits unternommen, eine Abhängigkeit der fermentativen Wirksamkeit der Muskeln von ihrem Tätigkeitszustand aufzuzeigen. Croxatto und seine Mitarbeiter (2) fanden bei Katzen eine Vermehrung an Cholinesterase im venösen Blut, die aus kontrahierten Muskeln stammen sollte. Martini und Mitarbeiter (3) beschrieben bei der Kontraktur durch Tetanustoxin eine Vermehrung dieses Ferments im Gastrocnemius und eine Verminderung desselben Ferments im Tibialis anterior der Ratte.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem gleichen Problem: an Hunden wurde das Verhalten der Cholinesterase von ruhenden und kontrahierten Muskeln, sowie in dem aus diesen Muskeln stammenden venösen Blute verfolgt.

II.

Die Untersuchungen wurden von März bis Juni 1939 an Hunden mittleren Alters durchgeführt. Narkose mit 0.07 g α-Chloralose pro kg. Die Wahl des Narkoticums ist nicht gleichgültig. Die Mehrzahl der in Frage kommenden Pharmaka besitzen einen direkten Einfluß auf das Ferment oder einen indirekten Einfluß auf die Reaktionsweise der Muskeln gegenüber nervösen Erregungen. Das benutzte Narkoticum hat sich ohne Einfluß auf das Ferment gezeigt und ruft einen tiefen Schlaf ohne Muskelzuckungen hervor.

In allen Versuchen wurde der Ischiadicus der Tiere in der Mitte des Oberschenkels 2 Minuten lang mit Hilfe einer Induktionsspule gereizt, die 50—60 Reize in der Sekunde lieferte. Die Intensität des Stromes in der Primärspule betrug 2 Amp., die Entfernung der Sekundärspule war immer gleich groß; stets wurde ein vollständiger Muskeltetanus erzielt.

Der Gastrocnemius und Tibialis anterior wurden bereits vor der Reizung freipräpariert, am Ende des Tetanus so rasch als möglich mit flüssiger Luft eingefroren; das gleiche geschah mit den gleichnamigen, nicht kontrahierten Muskeln der anderen Seite. Von den gefrorenen Muskeln wurden Stücke im Gewicht von 5—6 g aus den Teilen geschnitten, die dem Nerveneintritt in den Muskel benachbart waren, und im gefrorenen Zustand gepulvert. Die Vena femoralis der gereizten Seite war freigelegt und diente zu drei Blutentnahmen, nämlich vor der Muskelkontraktion, unmittelbar nachher und 10 Minuten später.

Zur Extraktion des Ferments wurde eine Ringerlösung (R 30) mit dem doppelten Gehalt an Bicarbonat benutzt, und zwar 3 ccm auf 1 g Muskelpulver. Nach 2 Stunden Extraktion bei Zimmertemperatur wurde bei 4000 Umdrehungen zentrifugiert und die Aktivität des Ferments nach der von Ammon (4) beschriebenen Methode in einem Gasgemisch von 95 % N und 5 % CO_2 bei 37,5° bestimmt. Die Werte für die Cholinesterase der kontrahierten Muskeln wurden mit denjenigen der normalen Muskelpaare desselben Tieres verglichen.

Das Blutserum wurde mit Ringerlösung auf das 20fache verdünnt und nach der gleichen Methode bestimmt.

Bei diesen Bestimmungen erwies sich die fermentative Zerstörung des Acetylcholins in der Zeitspanne 1 Stunde immer als linear.

III. Versuchsergebnisse.

Die folgende Tabelle zeigt die erhaltenen Werte für Cholinesterase (in cmm CO_2 je Stunde) der Muskelextrakte und der Blutsera.

Hund Nr.	Extr. Gastrocnemius			Extr. Tibialis ant.			Blutserum $^1/_{20}$			
	in Ruhe	gereizt	Änderung in %	in Ruhe	gereizt	Änderung in %	vor Reizung	nach Reizung	10 Min. später	Änderung in %
1	22	24	+ 9				80	83		
2	28	42	+ 50	41	49	+ 20	69	66	62	— 10
3	35	42	+ 20	43,5	46,5	+ 7	37	35	30,5	— 18
4	22,5	22	— 2	27	42	+ 55	69	79	66	— 4
5	30,5	36	+ 18	34	40	+ 18	65	60	62	— 5
6	19	29	+ 53	43	48	+ 12	57	57	52	— 9
7	15	30,5	+ 103	45	39	— 13	43	48,5	46,5	+ 8
8	27	30	+ 11	61,5	67,5	+ 10	55	53	54	— 2
9	28	32	+ 14	27	45	+ 67	69	66	62	— 10
10	26	32	+ 23	39	44	+ 13	72	68	67	— 7
			+ 28			+ 21				— 6

Aus den angeführten Ziffern ergibt sich zunächst, daß der Tibialis anterior — auch schon in der Ruhe — so gut wie regelmäßig eine größere fermentative Wirkung besaß als der Gastrocnemius. Ferner fand sich ganz überwiegend (17mal in 19 Proben) eine Vermehrung des fermentativen Vermögens gegenüber dem Acetylcholin in den Extrakten aus gereizten Muskeln im Vergleich zu denen aus ruhenden Muskeln. Diese Vermehrung war bei beiden Muskeln absolut gleich, entsprach nämlich im Durchschnitt 6,7 cmm CO_2 je Stunde, was fast 30 % für den Gastrocnemius und etwa 20 % für den Tibialis anterior bedeutet.

Die Cholinesterase des Blutes aus der Vena femoralis erscheint während des Tetanus (innerhalb 2 Minuten) nicht verändert. 10 Minuten später dagegen zeigt das Blut aus derselben Vene fast regelmäßig geringere Werte für die Cholinesterase: nämlich im Durchschnitt um 6 %. Bemerkenswert

ist die Abweichung im Versuch 7, wo der Gastrocnemius die höchste Steigerung, der Tibialis jedoch eine Abnahme und das Blut eine Zunahme des Wertes erkennen ließ, beide im Gegensatz zu sämtlichen anderen Versuchen.

IV. Besprechung der Ergebnisse.

Die von mir benutzte Methode für die Gewinnung der Muskelextrakte kann natürlich nicht als eine ideale betrachtet werden. Denn im Kapillarennetz der Muskeln bleibt eine Menge Blut, deren fermentative Aktivität sich der des eigentlichen Muskelgewebes beimischt. Dieses Blut wurde nicht vorher ausgewaschen, weil ich — so viel es möglich war — die normalen Durchblutungsverhältnisse während und nach der Muskelarbeit erhalten wollte.

Hätte ich das Blut vor Beginn des Versuchs auswaschen wollen, so hätte der Muskel unter abnormen Bedingungen arbeiten müssen, hätte ich es nach der Reizung versucht, so wäre vielleicht ein Teil des in diesem Zeitpunkt vorhandenen Ferments mit entfernt, überdies aber die Zeitspanne zwischen Ende der Reizung und Gefrieren des Muskels erheblich verlängert worden.

Bei erhaltenem Blutstrom war es für die Beurteilung der erhaltenen Zahlenwerte von großer Bedeutung, wie sich die in der Volumeneinheit des Muskels vorhandene Blutmenge vor Beginn und nach Ende der Reizung zueinander verhält.

Die Forschungen von H. Rein (5) bezüglich der Interferenz der verschiedenen Faktoren, welche die Durchblutung der arbeitenden Muskeln bestimmen, sowie diejenigen von Valdecasas (6), von J. Frey (7) und besonders von D. Schneider (8) hinsichtlich der selektiven Reizung der Muskeln, haben gezeigt, daß durch die Reizung eines motorischen Nerven die vegetativen Fasern, welche sich in diesem Nerven befinden, auch erregt werden. Eine Erregung mit weniger als 100 Reizstößen je Sekunde verursacht eine Konstriktion der kapillaren Gefäße.

Da ich nun Induktionsstöße mit einer Frequenz von 50—60 je Sekunde und eine zum vollständigen Tetanus ausreichende Intensität verwendete, glaube ich verhindert zu haben, daß die Blutmasse während der Arbeit zunahm. Da im Gegenteil eher eine Abnahme des — an Esterase ziemlich reichen — Blutes während der Reizung eingetreten sein dürfte, liegen die nach der Reizung ermittelten Zahlen wahrscheinlich noch unter den wahren Werten, wie sie bei konstanter Blutfülle erhalten worden wären.

Somit scheint die Zunahme des acetylcholinspaltenden Vermögens der tetanisierten Muskeln durchaus reell zu sein.

Wie bereits erwähnt, haben Martini, Torda und Zironi (3) gleichfalls, wenn auch mit einer anderen Methode, eine Erhöhung dieser Fermentwirkung für den Gastrocnemius festgestellt, dagegen eine Abnahme für den

Tibialis anterior. Demgegenüber fand ich auch hier eine Erhöhung, die nur relativ etwas geringeren Grades war als beim Gastrocnemius. Der Unterschied in den Ergebnissen kann vielleicht darauf zurückgeführt werden, daß die italienischen Autoren die Kontraktur durch Tetanus-Toxin herbeigeführt hatten.

Eine Verarmung an Esterase fand ich nur in dem 10 Minuten nach Ende der Kontraktur entnommenen Blute, dem Blute also, das während dieser Zeit die am Tier verbliebenen restlichen Muskelgruppen durchströmte, welche sich gleichzeitig mit Gastrocnemius und Tibialis anterior kontrahiert hatten. Die Verarmung betrug im Durchschnitt 6 %. Diese Zahl hat eine andere Bedeutung als die Zahlen für die Muskelextrakte, da die Fermentwirkung des Serums in zwanzigfacher Verdünnung ungefähr doppelt so groß ist wie diejenige der Muskelextrakte, die einer vierfachen Verdünnung entsprechen.

Die in dem Blute vor und gleich nach Ende des Tetanus angetroffenen Schwankungen sind zu klein und zu unregelmäßig, um einen wirklichen Unterschied zu demonstrieren. Diese Schwankungen gleichen nicht denjenigen, die Croxatto und seine Mitarbeiter (2) beobachtet haben und die einer fortschreitenden Vermehrung der Cholinesterase im Blute während der Muskelkontraktion, sowie einer nachherigen Verminderung entsprachen. Vielleicht kann diese Unstimmigkeit dadurch erklärt werden, daß die genannten Autoren das Blut aus der Vena renalis entnahmen und die Reizung an den Sacralwurzeln vornahmen, somit nur eine kleinere Anzahl von Muskeln zur Kontraktion brachten.

Fragt man nach der Bedeutung des Sinnes der gefundenen Schwankungen der Fermentaktivität in den Muskelextrakten und im Blute, so hat es den Anschein, als ob in den Muskeln das fermentative Vermögen gemäß den in Freiheit gesetzten Acetylcholinmengen schwankte. Doch wissen wir nicht, worin diese Schwankung besteht, und jede Schlußfolgerung wäre verfrüht, da wir über die Herkunft des Ferments nichts wissen.

Wir müssen uns auf die Bemerkung beschränken, daß die entgegengesetzte Richtung der in den Muskeln und im Blute festgestellten fermentativen Schwankungen es möglich erscheinen läßt, daß — wenigstens während der Erholungsperiode — Ferment aus dem Blute zugunsten der Muskeln eintritt.

Zusammenfassung.

Durch Reizung eines Ischiasnerven von Hunden wurde ein Tetanus von 2 Minuten Dauer hervorgerufen. Nach diesem Tetanus wurden die Werte für die Cholinesterase in Extrakten aus dem Gastrocnemius und Tibialis anterior und im Vergleich dazu in Extrakten aus den gleichsinnigen Muskeln der anderen nicht gereizten Seite bestimmt, ferner die entsprechenden Werte für das Blut, das aus diesen Muskeln stammte.

Die Muskelextrakte hatten nach der Kontraktion ein größeres fermentatives Vermögen, während es im Blute abnahm. Die Möglichkeit einer Retention von Blutferment in den Muskeln nach der Kontraktion wird zur Diskussion gestellt.

Literatur.

1) Loewi, O., u. E. Navratil: Arch. ges. Physiol. **214**, 678 (1926). — 2) Croxatto, H., Huidobro, R. Croxatto u. Silvestrini: C. r. Soc. Biol. Paris **130**, 236 (1939). — 3) Martini, E., Torda u. Zironi: J. Physiol. (Brit.) **96**, 168 (1939). — 4) Ammon, R.: Pflügers Arch. **233**, 486 (1935). — 5) Rein, H. u. M. Schneider: Z. Biol. **91**, 13 (1931). — 6) Valdecasas, Fr. G: Z. Biol. **96**, 28 (1935). — 7) Frey, J.: Pflügers Arch. **238**, 200 (1936); Z. Biol. **96**, 218 (1935). — 8) Schneider, D.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 111 (1934).

Aus dem Pharmakologischen Institut (Direktor: Prof. S. Janssen) und der Frauenklinik (Direktor: Prof. F. Siegert) der Universität Freiburg i. Br.

Künstliche Brunststoffe. Leberinsuffizienz durch 4. 4'-Dioxy-α, β-Diäthylstilben?

Von

Paul Grumbrecht und **Arnold Loeser.**

Frauenklinik Pharmakologisches Institut.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. April 1940.)

I. Einleitung.

In vorhergehenden Mitteilungen[1] wurde gezeigt, daß die künstlichen Brunststoffe 4, 4'-Dioxy-α, β-diäthylstilben (Diäthylstilboestrol) und 4, 4'-Dioxy-α, β-diäthylstilben-dipropionat * nach subcutaner oder peroraler Zufuhr in der Leber von Ratten Schädigungen verursachen. Diese Schädigungen äußern sich als degenerative Veränderungen und bestehen in feintropfiger Verfettung der Leberzellen und im Auftreten von Leberzellnekrosen. Die Ergebnisse wurden von Selye[2] und Grab[3] an Mäusen und Ratten, von Hachmeister[4] an Meerschweinchen bestätigt. Im Gegensatz zu diesen Tieren scheinen Hunde gegenüber künstlichen Brunststoffen weniger empfindlich zu sein (Arnold und Hamperl[5]).

Gleichzeitig mit dem Auftreten der degenerativen Veränderungen in der Leber sahen wir bei einzelnen Tieren eine gelblichgrüne Verfärbung innerer Organe. Besonders stark verfärbt war die Niere. Auch der Bilirubingehalt des Serums war deutlich erhöht und die Aldehydprobe im Harn (Urobilinogen) positiv. Noch weit stärkere ikterische Verfärbungen als wir beobachtete Lacassagne[6]. Seine Tiere gingen nach längerer Behandlungsdauer unter den Erscheinungen eines schweren Ikterus zugrunde. Diese Beobachtung führte uns zu der Frage, ob die Tiere an einer Leberinsuffizienz infolge einer weiteren Ausbreitung der nach kurzer Behandlungszeit (21—54 Tage) nachgewiesenen Nekrosen von Leberzellen sterben. Um diese Frage zu entscheiden, haben wir die Entwicklung und das Schick-

[1] Loeser: Z. exper. Med. **105**, 430 (1939); Klin. Wschr. **1939**, S. 346; Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 34 (1939); Klin. Wschr. **1939**, S. 1195. — [2] Selye: Canad. med. Assoc. J. **1939**, S. 48. — [3] Grab: Münch. med. Wschr. **1939**, S. 436. — [4] Hachmeister: Zbl. Gynäk. **1939**, S. 2657. — [5] Arnold u. Hamperl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 121 (1939). — [6] Lacassagne: C. r. Soc. Biol. **129**, 641 (1938).

* 4, 4'-Dioxy-α, β-diäthylstilben und 4, 4'-Dioxy-α, β-diäthylstilben-dipropionat sind unter den Namen Cyren A und Cyren B im Handel. Hersteller: I. G. Farbenindustrie.

sal der degenerativen Veränderungen in der Leber nach Dauerzufuhr künstlicher Brunststoffe untersucht.

II. Methodik.

Die Versuche wurden an weiblichen Mäusen, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, Katzen sowie Hunden ausgeführt und erstreckten sich auf die histologische Untersuchung der Leber. Außerdem bestimmten wir bei einem Teil der Tiere den Bilirubingehalt im Serum (Hijmans van den Bergh). Als künstlichen Brunststoff benutzten wir 4, 4-Dioxy-α, β-diäthylstilben und 4, 4′-Dioxy-α, β-diäthylstilben-dipropionat. Die zu prüfenden Substanzen waren in Sesamöl gelöst. Die Lösungen wurden den Tieren einmal täglich subcutan injiziert. Die Tagesdosis betrug 0,25 mg oder 1 mg, die Versuchsdauer 7—190 Tage. Als Vergleichstiere dienten Ratten, die mit Sesamöl, Oestradiolmonobenzoat (1 mg) oder Oestron (1 mg) behandelt worden waren.

Die Versuche wurden in den Monaten August 1939 bis April 1940 ausgeführt.

III. Das Verhalten der Leber bei Dauerzufuhr von 4, 4′-Dioxy-α, β-Diäthylstilben.

Werden Ratten täglich subcutan große Mengen Dioxydiäthylstilben zugeführt, dann zeigt die Leber dieser Tiere, wie wir bereits ausführten, degenerative Veränderungen. Das zeitliche Auftreten dieser Erscheinungen wurde von uns bis zum 54. Versuchstage untersucht. Um das Schicksal der beschriebenen Veränderungen in der Leber verfolgen zu können, haben wir mehrere Gruppen normaler weiblicher Ratten über 6 Monate mit Dioxydiäthylstilben oder Dioxydiäthylstilbendipropionat behandelt und die Leber histologisch untersucht. Zum Vergleich der Wirkungen der künstlichen Brunststoffe mit denen der körpereigenen oestrogenen Substanzen wurde der Einfluß gleicher Gewichtsmengen Oestron und Oestradiolmonobenzoat auf die Leber geprüft. Da alle Substanzen in Sesamöl gelöst waren, untersuchten wir in einer besonderen Versuchsreihe auch das Verhalten der Leber gegenüber dem Lösungsmittel.

Die erste Feststellung, die sich aus den unten aufgeführten Einzelversuchen ergibt, ist die, daß bei Dauerzufuhr hoher Dosen körpereigener oder körperfremder Brunststoffe ein Teil der Tiere zugrunde geht. Als Todesursache ließ sich bei der Mehrzahl dieser Tiere Peritonitis als Folge einer durchgebrochenen Pyometra oder eines Ovarialabszesses oder eine Pyelonephritis nachweisen. Bei anderen Tieren fanden sich Hirnveränderungen in Form von Erweichungsherden oder Blutungen, die vorwiegend an der Hirnbasis lokalisiert waren. Diese Todesursachen werden verständlich, wenn man an die starken Wucherungsvorgänge denkt, die die Brunststoffe im Bereiche der Genitalsphäre auslösen. Hierbei kann es zu Sekretstauungen in den Gebärmutterhörnern und zum Durchbruch des von der Vagina aus infizierten Inhaltes in die Bauchhöhle kommen. Weiter ist bekannt, daß Brunststoffe auch Harnstauungen in der Blase verursachen und damit die Vorbedingungen für eine aufsteigende Infektion

geben können. Die Hirnveränderungen endlich werden aus der Vergrößerung der Hypophyse verständlich, wie man sie bei fortgesetzter Verabfolgung großer Mengen sowohl künstlicher als auch körpereigener oestrogener Substanzen beobachtet. Vergrößerungen der Hypophyse auf das Zehnfache und darüber waren bei unseren Versuchstieren keine Seltenheit. Es ist klar, daß durch derartige Größenzunahmen benachbarte Hirnabschnitte verdrängt oder durch Blutungen aus der Hyphopyse geschädigt werden können.

Veränderungen der Leber, die mit dem Tod der Tiere in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden könnten, ließen sich nie nachweisen. Diese Beobachtung ist deshalb bemerkenswert, weil zu erwarten war, daß sich die von uns in früheren Versuchen nach 54tägiger Zufuhr von täglich 1 mg Dioxydiäthylstilben gefundenen degenerativen Veränderungen in der Leber bei weiterer Ausdehnung der Behandlungszeit verstärken und schließlich zu einer Leberinsuffizienz führen würden. Auf diese Möglichkeit deuteten ja auch die erwähnten Angaben von Lacassagne [7] hin.

Der Grund für das Ausbleiben gröberer Leberschädigungen bei Dauerzufuhr künstlicher Brunststoffe ergibt sich zunächst aus der histologischen Untersuchung der Leber der überlebenden Tiere. Sie zeigt, daß die anfänglichen degenerativen Veränderungen selbst nach mehrmonatiger Verabreichung großer Mengen Dioxydiäthylstilben nicht weiter zunehmen. Es läßt sich vielmehr feststellen, daß die Zahl der frischen Prozesse um so mehr abnimmt, je länger die Versuche ausgedehnt werden. Eine weitere Beobachtung ist die, daß die schon bestehenden Veränderungen ausheilen, d. h. aus der frischen Nekrose wird die bindegewebige Narbe. Dabei ist es gleichgültig, ob die Tiere mit Dioxydiäthylstilben oder mit Dioxydiäthylstilbendipropionat behandelt worden waren. Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß die degenerativen Veränderungen in der Leber nach subcutaner Einwirkung des Esters (Dioxydiäthylstilbendipropionat) immer geringer sind als die nach subcutaner Verabfolgung gleicher Gewichtsmengen von unverestertem Dioxydiäthylstilben. Außerdem geht aus den nachstehenden Versuchsergebnissen hervor, daß die durch Dioxydiäthylstilbendipropionat verursachten Veränderungen bereits am 90. Tage fast vollkommen ausgeheilt waren, obwohl die Behandlung fortgesetzt wurde. Erhalten die Tiere dagegen gleiche Gewichtsmengen Dioxydiäthylstilben, dann sind die Schädigungen auch am 90. Tage noch nachweisbar. Vergleicht man endlich die anatomischen Befunde nach 90tägiger Zufuhr von täglich 1 mg Dioxydiäthylstilbendipropionat mit den unten aufgeführten Befunden nach 90tägiger Einwirkung von täglich 0,25 mg Dioxydiäthylstilben, dann zeigt sich, daß die toxische Wirkung von 1 mg Dioxydiäthylstilbendipropionat etwa der von 0,25 mg Dioxydiäthylstilben entspricht.

[7] Lacassagne: l. c.

Die einzelnen Stadien der Leberschädigung lassen sich besonders gut verfolgen, wenn man die Menge des zugeführten Brunststoffes niedrig wählt. Injiziert man beispielsweise an Stelle von 1 mg Dioxydiäthylstilben täglich 0,25 mg, und tötet die Tiere nach 21, 32, 53 oder 90 Tagen, dann sind nach 21 Tagen in der Leber aller Tiere frische toxische Veränderungen vorhanden. Diese heilen im Verlaufe der weiteren Behandlungszeit soweit aus, daß schon am 90. Tage keine Veränderungen in der Leber mehr zu erkennen sind. Hieraus muß gefolgert werden, daß eine Gewöhnung an den künstlichen Brunststoff eintritt. Der Zeitpunkt der Gewöhnung ist offenbar abhängig von der Menge der täglich zugeführten Substanz. Nur so ist zu verstehen, daß in der Leber der Tiere, die 190 Tage täglich 1 mg Dioxydiäthylstilben erhalten hatten, neben den Ausheilungsvorgängen immer wieder frische degenerative Veränderungen in Form von Schrumpfung und Verklumpung der Leberzellkerne, vereinzelten frischen Nekrosen sowie Ansammlung von Rundzellen im periportalen Gewebe, auftreten, während dies bei der kleinen Dosis nicht der Fall ist. Allerdings überwiegen bei der hohen Dosis immer noch die Ausheilungsvorgänge.

Derartige degenerative Veränderungen in der Leber treten bei Einwirkung gleicher oder größerer Gewichtsmengen körpereigener oestrogener Substanzen nicht auf. Sie fehlten auch nach Dauerbehandlung mit Sesamöl (Ausnahme Ratte K 6).

Histologischer Untersuchungsbefund.

1. Die Versuchstiere.

Dioxydiäthylstilben.

I. 3 Gruppen von insgesamt 36 Ratten im Gewicht von 70—128 g erhielten während 90, 170 und 190 Tagen täglich subcutan eine Lösung von 1 mg Dioxydiäthylstilben in 0,2 ccm Sesamöl. Während der Versuchszeit gingen 11 Tiere ein. Ratte Ds 13 starb am 69., Ds 39 am 104., Ds 33 am 113., Ds 17 und Ds 23 am 120., Ds 15 am 126., Ds 16, Ds 19, Ds 20 am 134., Ds 30 am 149. und Ds 11 am 178. Tage. Ebenso wie bei den mit Oestradiolmonobenzoat behandelten Tieren war auch hier die Todesursache Peritonitis infolge Pyometra oder Ovarialabszeß bzw. Hirnblutung infolge von Hypophysenveränderungen. Die überlebenden Tiere wurden nach Ablauf der Behandlungszeit getötet und die Leber histologisch untersucht.

Ergebnis. 90-Tage-Versuch. Ratte Ds 2, Ds 3, Ds 5 bis Ds 10.

Die stärksten Veränderungen zeigt die Leber von Ratte Ds 10. Die Leberzellen sind ungleichmäßig angeordnet und liegen in Strängen und Haufen zusammen. Dazwischen finden sich die Reste früherer Nekrosen. Die Größe der Leberzellen ist verschieden. Viele enthalten Riesenkerne, außerdem besteht eine ausgesprochene Metachromasie. Das Zwischengewebe ist vermehrt und teilweise zellig infiltriert. In den übrigen Leberpräparaten dieser Serie sieht man vereinzelte kleine bindegewebige Herde (Narben). Die Größe der Leberzellen ist auch hier verschieden. In einzelnen Leberzellen sind die Kerne geschrimpft. Außer diesen Veränderungen findet sich im periportalen Gewebe der Leber von Ratte Ds 7 eine reichliche Ansammlung von Rundzellen. Die Leber von Tier Ds 2 zeigt keine pathologischen Veränderungen. Der Bilirubingehalt des Serums war normal und betrug im Mittel 0,25 mg%.

170-Tage-Versuch. Ratte Ds 21, Ds 22, Ds 25 bis Ds 29, Ds 31, Ds 32, Ds 34 bis Ds 37, Ds 40.

Die Leber von Ratte Ds 31 enthält miliare Nekrosen von Leberzellen. In der Leber der Tiere Ds 25, Ds 26, Ds 35 und Ds 36 sind vereinzelte Nekrosen von Leberzellen nachzuweisen. Außer diesen Veränderungen findet sich im periportalen Gewebe von Ratte Ds 25, Ds 35 und Ds 36 eine geringe Ansammlung von Rundzellen. In der Leber der Tiere Ds 27 und Ds 37 ist das periportale Gewebe zellig infiltriert. Die Leber von Ratte Ds 40 zeigt eine starke Erweiterung der größeren Lebervenen und der Gallengänge. Daneben weisen einzelne Leberzellkerne degenerative Veränderungen auf. Die Leber der Tiere Ds 21, Ds 22, Ds 28, Ds 29, Ds 32 und Ds 34 ist unverändert. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,25 mg%.

190-Tage-Versuch. Ratte Ds 12, Ds 14, Ds 18.

In der Leber von Ratte Ds 12 findet sich ein größerer bindegewebiger Herd. Die Kerne einzelner Leberzellen zeigen degenerative Veränderungen. Das periportale Gewebe ist mit Rundzellen infiltriert. Die Leber von Ratte Ds 18 enthält vereinzelte Nekrosen von Leberzellen. Die Zellkerne einzelner Leberzellen zeigen degenerative Veränderungen. Die Leber von Ratte Ds 14 ist unverändert. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,25 mg%.

In der Leber der vorzeitig eingegangenen Tiere war der histologische Befund wechselnd. Die stärksten Veränderungen zeigt die Leber von Ratte Ds 16, die miliare Nekrosen von Leberzellen aufweist. In der Leber von Ratte Ds 11 fehlt an vielen Stellen die normale Läppchenzeichnung. Die Anordnung der Leberzellen ist unregelmäßig. Die Zellgrenzen sind verwaschen. Die Größe der Kerne ist verschieden, hier und da sind Riesenzellen anzutreffen. In der Leber von Ratte Ds 13 und Ds 23 sind vereinzelte örtliche Nekrosen enthalten. Im Leberzellgewebe von Ratte Ds 17 finden sich einzelne fibröse, kernarme Herde (Narben). In vielen Leberzellen sind die Kerne geschrumpft. Das periportale Gewebe ist mit Rundzellen infiltriert. Ähnliche Veränderungen lassen sich auch in der Leber der Tiere Ds 30, Ds 39, Ds 33, Ds 20, Ds 19 und Ds 15 nachweisen.

II. 4 Gruppen von je 5 Ratten im Gewicht von 70—119 g erhielten täglich subcutan eine Lösung von 0,25 mg Dioxydiäthylstilben in 0,2 ccm Sesamöl. Die Versuchszeit betrug 21, 32, 53 und 90 Tage. Am Tage nach der letzten Injektion wurden die Tiere getötet und die Leber histologisch untersucht.

Ergebnis. 21-Tage-Versuch. Ratte Ds 325 bis Ds 329.

In der Leber von Ratte Ds 325 finden sich frische und ältere Nekrosen von Leberzellen. Die Leber von Ratte Ds 326, Ds 327 und Ds 329 zeigt vereinzelte, in Organisation begriffene Nekrosen von Leberzellen. Frische Veränderungen fehlen hier. Die Leber von Ratte Ds 328 weist eine diffuse Verfettung auf. Außerdem lassen sich hier zahlreiche herdförmige, meist in Organisation begriffene, Nekrosen von Leberzellen nachweisen. Das periportale Gewebe ist zellig infiltriert. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,65 mg%.

32-Tage-Versuch. Ratte Ds 320 bis Ds 324.

Die Leber von Ratte Ds 320 ist normal. In der Leber von Ratte Ds 321 und Ds 323 finden sich ganz vereinzelte örtliche Nekrosen von Leberzellen. Die Leber von Ratte Ds 322 zeigt herdförmige, frische und ältere Nekrosen von Leberzellen. Bei Ratte Ds 324 sind an zahlreichen Leberzellkernen degenerative Veränderungen zu erkennen. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,35 mg%.

53-Tage-Versuch. Ratte Ds 315 bis Ds 319.

Die Leber von Ratte Ds 318 und Ds 319 enthält vereinzelte Nekrosen von Leberzellen. Die Leber von Ratte Ds 315 weist mehrere ältere organisierte Nekrosen auf. Die Leber von Ratte Ds 316 zeigt außer einer geringen zelligen Infiltration des periportalen Gewebes keine besonderen Veränderungen. In der Leber von Ratte

Ds 317 finden sich blasig aufgetriebene Leberzellen. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,41 mg%.

90-Tage-Versuch. Ratte Ds 310 bis Ds 314.

Mit Ausnahme der Leber von Ratte Ds 312, die vereinzelte herdförmige Nekrosen von Leberzellen (älteres Stadium) erkennen läßt, zeigt die Leber aller übrigen Tiere keine pathologischen Veränderungen. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,25 mg%.

Dioxydiäthylstilbendipropionat.

3 Gruppen von insgesamt 19 Ratten im Gewicht von 76—130 g erhielten während 53, 90 und 190 Tagen täglich subcutan eine Lösung von 1 mg Dioxydiäthylstilbendipropionat in 0,2 ccm Sesamöl. Während der Versuchszeit gingen 3 Tiere ein. Ratte Dp 2 starb am 135., Ratte Dp 4 am 138. und Ratte Dp 1 am 169. Tage. Todesursache war bei den Tieren Dp 1 und Dp 2 Peritonitis, bei Ratte Dp 4 Blutung in die Hypophyse. Die überlebenden Tiere wurden nach Abschluß der Behandlung getötet und die Leber histologisch untersucht.

Ergebnis. 53-Tage-Versuch. Ratte Dp 16 bis Dp 20.

Mit Ausnahme von Ratte Dp 20, deren Leber keine pathologischen Veränderungen aufweist, finden sich in der Leber der übrigen Tiere vereinzelte Nekrosen von Leberzellen. In der Leber von Ratte Dp 18 und Dp 19 ist außerdem das periportale Gewebe zellig infiltriert. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,46 mg%.

90-Tage-Versuch. Ratte Dp 11 bis Dp 15.

Nur in der Leber von Ratte Dp 15 finden sich vereinzelte herdförmige Nekrosen von Leberzellen sowie Ansammlungen von Rundzellen im periportalen Gewebe. Bei allen übrigen Tieren ist die Leber normal. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,15 mg%.

190-Tage-Versuch. Ratte Dp 3 und Dp 6 bis Dp 10.

Nur die Leber von Ratte Dp 10 zeigt vereinzelte Nekrosen von Leberzellen sowie Ansammlungen von Rundzellen im periportalen Gewebe. Bei allen übrigen Tieren ist die Leber normal. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,13 mg%.

In der Leber der vorzeitig eingegangenen Tiere finden sich sowohl frische (Ratte Dp 4) als auch ältere (Ratte Dp 1) Nekrosen von Leberzellen. Die Leber von Ratte Dp 2 zeigt postmortale Veränderungen.

2. Die Vergleichstiere.

Oestron.

13 Ratten (O 300 bis O 303, O 305 bis O 308, O 330, O 333 bis O 336) im Gewicht von 81—104 g erhielten 90 oder 190 Tage täglich subcutan eine Lösung von 1 mg Oestron in 0,3 ccm Sesamöl (Oestron löst sich in Sesamöl schwerer als Dioxydiäthylstilben). Die Tiere O 330 und O 333 bis O 336 wurden am 90. Behandlungstage getötet. Ratte O 303 starb am 105., Ratte O 305 am 121. Versuchstag. Die Todesursache war in beiden Fällen Peritonitis. Alle übrigen Tiere wurden am 191. Tage getötet.

Ergebnis. In der Leber von Ratte O 330 findet sich eine geringe perivaskuläre Infiltration, in der Leber von Tier O 303 ein kleiner Abszeß. Bei allen anderen Tieren zeigt die Leber keine pathologischen Veränderungen. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,12 mg%.

Oestradiolmonobenzoat.

12 Ratten (L 1 bis L 3, L 5 bis L 6, L 8 bis L 9, L 11, L 12, L 14, L 15, L 16) im Gewicht von 59—54 g erhielten täglich subcutan eine Lösung von 1 mg Oestradiolmonobenzoat in 0,3 ccm Sesamöl. Die Tiere L 12, L 14, L 15 und L 16 wurden am 90. Behandlungstage getötet. Alle übrigen Tiere starben vor Ablauf der beabsichtigten Versuchszeit (190 Tage). Die Todesursache war bei einigen Tieren Peritonitis, bei anderen Blutung an der Hirnbasis. Ratte L 9 ging am 76., Ratte L 11 und L 3 am 96., Ratte L 8 am 83., Ratte L 2 am 107., Ratte L 5 am 110., Ratte L 6 am 114. und Ratte L 1 am 151. Tage der Behandlung ein.

Ergebnis. Die histologische Untersuchung der Leber aller Tiere ergibt in keinem Falle pathologische Veränderungen.

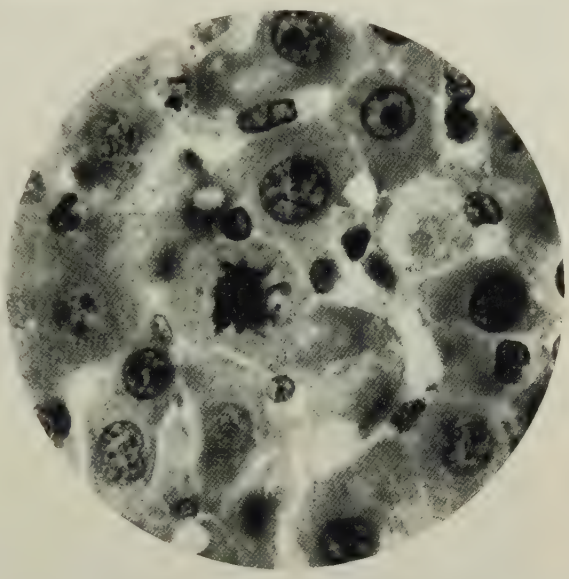


Abb. 1. Leber einer Ratte (T 4), die 7 Tage täglich subcutan 0,25 mg Dioxydiäthylstilben erhalten hatte. Man beachte die degenerative Veränderung des Zellkerns. Färbung: H.-E. Vergrößerung: 450 fach. Ölimmersion.

Sesamöl.

10 Ratten (K 1 bis K 10) im Gewicht von 65 bis 114 g erhielten 190 Tage täglich subcutan 0,3 ccm Sesamöl. Das Tier K 4 wurde wegen des schlechten Allgemeinzustandes am 135. Behandlungstage getötet. Ratte K 8 starb am 142. Versuchstage. Die Todesursache war Pneumonie. Alle anderen Tiere wurden am 191. Tage getötet.

Ergebnis: Nur in der Leber der Tiere K 6 und K 9 findet sich eine geringe perivaskuläre Infiltration. Die Leber von Ratte K 6 enthält außerdem vereinzelte örtliche Nekrosen von Leberzellen. Bei allen anderen Tieren

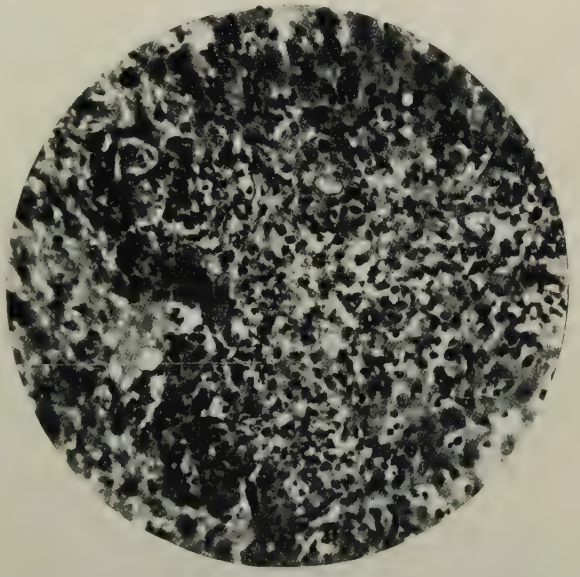


Abb. 2. Leber einer Ratte (Ds 325), die 21 Tage täglich subcutan 0,25 mg Dioxydiäthylstilben erhalten hatte. Frische Nekrose mit Ansammlung von Leukocyten und Rundzellen. Färbung: H.-E. Vergrößerung: 250 fach.

ist die Leber unverändert. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,23 mg% gegenüber 0,25 mg% bei unbehandelten Ratten.

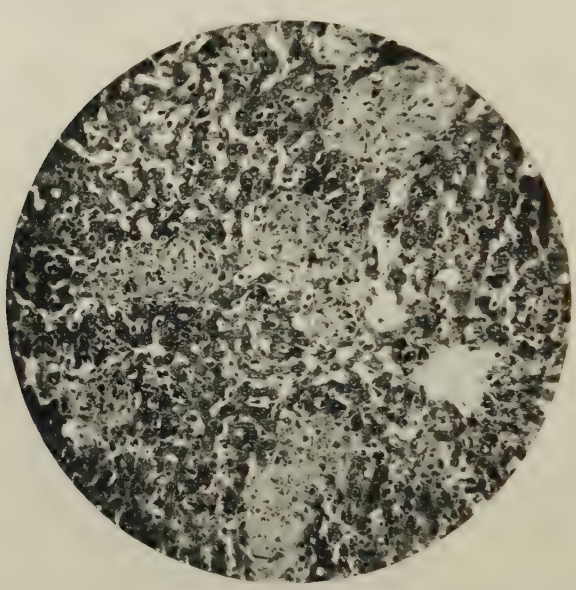


Abb. 3. Leber einer Ratte (Ds 16) nach 134tägiger Einwirkung von täglich 1 mg Dioxydiäthylstilben. Miliare Nekrosen von Leberzellen. Färbung: H.-E. Vergrößerung: 70fach.

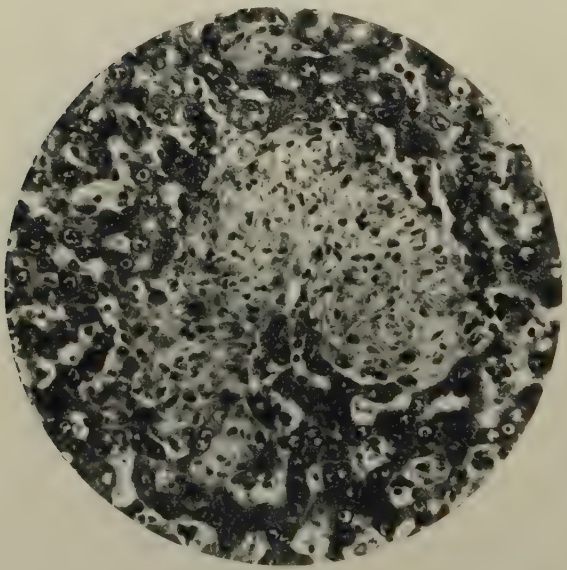


Abb. 4. Ausschnitt aus Abb. 3 bei starker Vergrößerung (250fach). Man beachte die bindegewebige Organisation.

IV. Über das zeitliche Auftreten der degenerativen Veränderungen in der Leber.

Der Befund, daß das Ausmaß der degenerativen Veränderungen in der Leber nach 90tägiger Zufuhr von täglich 1 mg Dioxydiäthylstilben eher geringer ist als nach 54tägiger Behandlungszeit, nach 190 Tagen aber frische Nekrosen nur noch selten zu beobachten sind, weist darauf hin, daß die toxische Schädigung bereits sehr früh einsetzen muß. Um deren zeitliches Auftreten genauer kennenzulernen, haben wir folgende Versuche ausgeführt:

I. Zehn Ratten (Ds 500 bis Ds 509) im Gewicht von 65—90 g erhielten täglich subcutan eine Lösung von 1 mg Dioxydiäthylstilben in Sesamöl. Die Versuchszeit betrug 7 oder 14 Tage. Am Tage nach der letzten Injektion wurden die Tiere getötet und die Leber histologisch untersucht.

Ergebnis: 7-Tage-Versuch. Ratte Ds 500 bis Ds 504. Die Leber

von Ratte Ds 504 ist unverändert. Bei den Tieren Ds 500, Ds 502 und Ds 503 sind in vereinzelten Leberzellen degenerative Veränderungen an den Zellkernen nachzuweisen (Karyolyse und Karyorhexis). Die Leber von Ratte Ds 504 zeigt miliare Nekrosen von Leberzellen. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,15 mg%.

14-Tage-Versuch. Ratte Ds 505 bis Ds 509. Die Leber von Ratte Ds 505 ist unverändert. Bei den übrigen Tieren dieser Gruppe finden sich nur in einzelnen Leberzellen degenerative Veränderungen an den Zellkernen. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,86 mg%.

II. Zehn Ratten (T 1 bis T 10) im Gewicht von 65—105 g erhielten täglich subcutan eine Lösung von 0,25 mg Dioxydiäthylstilben in Sesamöl. Die Versuchszeit betrug 7 oder 14 Tage. Am Tage nach der letzten Injektion wurden die Tiere getötet und die Leber histologisch untersucht.

Ergebnis: 7-Tage-Versuch. Ratte T 1 bis T 5. In der Leber von Ratte T 4 finden sich frische Nekrosen, die aus Zelltrümmern und eingewanderten Leukocyten bestehen. Die Kerne der in der Umgebung dieser Nekrosen liegenden Leberzellen sind pyknotisch verändert. Bei Ratte T 2 und T 3 sind in zahlreichen Leberzellen degenerative Veränderungen an den Zellkernen nachzuweisen. Zusammenhängende Nekrosen fehlen. Die Leber der Tiere T 1 und T 5 ist unverändert. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,58 mg%.

14-Tage-Versuch. Ratte T 6 bis T 10. Die Leber der Tiere T 7 und T 8 zeigt Nekrosen von Leberzellen. Im interlobulären Gewebe finden sich vereinzelte Leukocyten. Die Leber der Tiere T 6, T 9 und T 10 ist unverändert. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,20 mg%.

III. 14 Ratten (Dp 100 bis Dp 113) im Gewicht von 100—119 g erhielten täglich subcutan eine Lösung von 1 mg Dioxydiäthylstilbendipropionat in Sesamöl. Die Versuchszeit betrug 7 oder 14 Tage. Am Tage nach der letzten Injektion wurden die Tiere getötet und die Leber histologisch untersucht.

Ergebnis: 7-Tage-Versuch. Ratte Dp 100 bis Dp 106. Bei Ratte Dp 100 und Ratte Dp 103 finden sich in einzelnen Leberzellen degenerative Veränderungen an den Zellkernen. Die Leber von Ratte Dp 106 enthält vereinzelte perivaskuläre Infiltrate. Die Leber der Tiere Dp 101, Dp 102, Dp 104 und Dp 105 ist unverändert. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,15 mg%.

14-Tage-Versuch. Ratte Dp 107 bis Dp 113. Die Leber von Ratte Dp 110 und Dp 111 ist unverändert. Die Leber von Ratte Dp 107, Dp 108, Dp 109, Dp 112 und Dp 113 enthält perivaskuläre Infiltrate. Der Bilirubingehalt des Serums betrug im Mittel 0,38 mg%.

Die beschriebenen Versuche lassen eindeutig erkennen, daß schon nach siebentägiger Zufuhr von Dioxydiäthylstilben degenerative Veränderungen in der Leber zu beobachten sind. Dabei handelt es sich um

ganz frische Prozesse, bei denen zunächst der Zellkern geschädigt wird. Es kommt zur Verklumpung, Schrumpfung und schließlich zur Auflösung des Kernes. An manchen Stellen sieht man Bezirke mit zugrunde gegangenen Leberzellen, in die Leukocyten eingewandert sind. Neben den Veränderungen an den Leberzellen findet sich eine geringe leukocytäre Infiltration des Bindegewebes. Weiterhin ist festzustellen, daß die Zahl der geschädigten Leberzellen nach 7 Tagen größer ist als nach 14 Tagen. Auch diese Beobachtung weist darauf hin, daß die Gewöhnung an die künstlichen Brunststoffe bereits sehr früh einsetzt. Diese tritt um so früher ein, je kleiner die Dosis ist. Dabei ist zu berücksichtigen, daß das Ausmaß der Veränderungen von der Menge der verabreichten Substanz abhängig ist. Wird beispielsweise statt 1 mg nur 0,25 mg Dioxydiäthylstilben täglich subcutan injiziert, dann ist die Zahl der Schädigungen unter Berücksichtigung des Zeitpunktes des ersten Auftretens der Leberveränderung bei der kleinen Dosis geringer als bei der großen.

Im Gegensatz zu dem unveresterten Dioxydiäthylstilben ist die Zahl der geschädigten Tiere nach Einwirkung gleicher Gewichtsmengen Dioxydiäthylstilbendipropionat kleiner. Diese Reaktion ist sicher nicht allein auf die unterschiedlichen Mengen — 1 mg Dioxydiäthylstilbendipropionat entspricht nur 0,71 mg Dioxydiäthylstilben — zurückzuführen. Es muß vielmehr auch bedacht werden, daß infolge der langsamen Spaltung des Esters im Organismus dauernd nur kleine Mengen von Dioxydiäthylstilben frei werden und zur Wirkung gelangen.

V. Über das Verhalten der Leber verschiedener Tierarten gegenüber künstlichen Brunststoffen.

Bei unseren Untersuchungen über die perorale Wirksamkeit künstlicher Brunststoffe[8] haben wir bereits angegeben, daß die Reaktionsweise der Leber gegenüber diesen Substanzen verschieden ist. So ließ sich zeigen, daß im Gegensatz zur Ratte in der Leber von Meerschweinchen keine pathologischen Veränderungen auftreten. Ebenso wie das Meerschweinchen verhält sich auch der Hund. Aus den Angaben von Arnold und Hamperl[9] geht hervor, daß von 5 Hunden, die täglich intramuskulär 4 oder 5 mg künstlichen Brunststoff erhalten hatten, nur ein Tier Veränderungen in der Leber (Verfettung, Gallezylinder) aufwies. Diese Tatsachen lassen vermuten, daß die Empfindlichkeit der Leber bei den einzelnen Tierarten verschieden ist. Den Beweis hierfür liefert der Versuch. Untersucht man nämlich bei den einzelnen Tierarten die Wirkung gleicher Gewichtsmengen Dioxydiäthylstilben auf die Leber, dann ergibt sich folgendes:

[8] Grumbrecht u. Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 34 (1939). — [9] Arnold u. Hamperl: Ebenda **194**, 121 (1939).

Maus.

10 Mäuse (S 1 bis S 10) im Gewicht von 12—22 g erhielten täglich subcutan pro kg 1 mg Dioxydiäthylstilben in Sesamöl gelöst. Die Versuchsdauer betrug 7 oder 14 Tage.

Ergebnis: 7-Tage-Versuch. Maus S 1 bis S 5. Tier S 5 ging am zweiten Versuchstage ein. In der Leber von Maus S 1 finden sich zahlreiche herdförmige Nekrosen von Leberzellen. Bei den Tieren S 2, S 3 und S 4 sind neben Leberzellnekrosen und degenerativen Veränderungen am Zellkern auch kleine perivaskuläre Infiltrate nachweisbar, die sich aus Rundzellen und vereinzelten Leukocyten zusammensetzen.

14-Tage-Versuch. Maus S 6 bis S 10. Tier S 6 ging am siebenten Versuchstage ein. Die Leber aller Tiere enthält perivaskuläre Infiltrate. Nekrosen von Leberzellen finden sich nur bei Maus S 8.

Ratte.

20 Ratten (A 1 bis A 20) im Gewicht von 80—220 g erhielten täglich subcutan pro kg 1 mg Dioxydiäthylstilben in Sesamöl gelöst. Die Versuchsdauer betrug 7 oder 14 Tage.

Ergebnis: 7-Tage-Versuch. Ratte A 1 bis A 5 (Gewicht 105—120 g) und Ratte A 11 bis A 15 (Gewicht 150—220 g). Bei den Tieren A 1, A 2, A 5, A 12 und A 13 ist die Leber unverändert. In der Leber der übrigen Tiere finden sich degenerative Veränderungen an den Zellkernen. Nekrosen fehlen.

14-Tage-Versuch. Ratte A 6 bis A 10 (Gewicht 80—110 g) und Ratte A 16 bis A 20 (Gewicht 150—220 g). Bei 6 Tieren (A 7 bis A 10, A 19 und A 20) ist die Leber unverändert. In der Leber von Ratte A 6, A 16, A 17 und A 18 finden sich in vereinzelten Leberzellen degenerative Kernveränderungen. Die Leber von Ratte A 17 weist außerdem eine größere Nekrose auf.

Meerschweinchen.

10 Meerschweinchen (M 1 bis M 10) im Gewicht von 360—480 g erhielten täglich subcutan pro kg 1 mg Dioxydiäthylstilben in Sesamöl gelöst. Die Versuchszeit betrug 7 oder 14 Tage.

Ergebnis: 7-Tage-Versuch. Meerschweinchen M 1 bis M 5. Degenerative Kernveränderungen sowie Nekrosen von Leberzellen fehlen bei allen Tieren. Als einzige Veränderung läßt sich eine geringe perivaskuläre Infiltration im periportalen Gewebe, die aus Rundzellen und vereinzelten Leukocyten besteht, nachweisen.

14-Tage-Versuch. Meerschweinchen M 6 bis M 10. Die Leber von Tier M 6 ist unverändert. Die Leber der übrigen Tiere zeigt die gleichen Veränderungen wie nach siebentägiger Behandlung.

Kaninchen.

6 Kaninchen (K 1 bis K 6) im Gewicht von 1400—3030 g erhielten täglich subcutan pro kg 1 mg Dioxydiäthylstilben in Sesamöl gelöst. Die Versuchszeit betrug 7 oder 14 Tage.

Ergebnis: 7-Tage-Versuch. Kaninchen K 1 bis K 3. Die Leber von Tier K 3 enthält Nekrosen von Leberzellen. In der Leber der Tiere K 1 und K 2 ist außer einer geringen perivaskulären Infiltration keine Veränderung zu sehen.

14-Tage-Versuch. Kaninchen K 4 bis K 6. Die Leber der Tiere K 5 und K 6 enthält örtliche Nekrosen von Leberzellen sowie geringe perivaskuläre Infiltrate. Die Leber von Tier K 4 zeigt nur eine geringe perivaskuläre Infiltration.

Katze.

4 Katzen (Ka 1 bis Ka 4) im Gewicht von 2110—3120 g erhielten täglich subcutan pro kg 1 mg Dioxydiäthylstilben in Sesamöl gelöst. Die Versuchszeit betrug 7 oder 14 Tage.

Ergebnis: 7-Tage-Versuch. Katze Ka 1 und Ka 2. In der Leber beider Tiere findet sich eine grob- und feintropfige Verfettung der peripheren Läppchenbezirke. Der Bilirubingehalt des Serums betrug bei Katze Ka 1 0,1 mg%, bei Katze Ka 2 0,51 mg%.

14-Tage-Versuch. Katze Ka 3 und Ka 4. Die Leber beider Tiere ist gelb verfärbt. Die Leber von Katze Ka 4 hat das Aussehen einer Muskatnußleber. Während die Läppchenzeichnung hier gut erhalten ist, ist sie bei Katze Ka 3 kaum zu erkennen. Histologisch zeigt die Leber von Katze Ka 3 eine Verfettung der peripheren und zentralen Läppchenteile, die degenerativer Natur ist. Vereinzelt sieht man herdförmige Nekrosen von Leberzellen mit Ansammlung von Leukocyten. Die Leber von Katze Ka 4 zeigt eine ausgedehnte grob- und feintropfige Verfettung der peripheren Läppchenteile. Daneben finden sich vereinzelte herzförmige Nekrosen von Leberzellen. Der Bilirubingehalt des Serums von Katze Ka 3 und Ka 4 betrug 1,52 mg%.

Hund.

2 Hunde im Gewicht von 14000 und 15800 g erhielten täglich subcutan pro kg 1 mg Dioxydiäthylstilben in Sesamöl gelöst. Die Versuchszeit betrug 7 oder 14 Tage.

Ergebnis: 7-Tage-Versuch. Hund 1. Die Leber ist unverändert.

14-Tage-Versuch. Hund 2. Die Leber ist unverändert.

Vergleicht man die anatomischen Veränderungen in der Leber der aufgeführten Tiere untereinander, dann läßt sich hinsichtlich des Ausmaßes der Schädigung durch künstliche Brunststoffe folgende Reihe aufstellen: Die stärkste Schädigung zeigt die Katze. Schon bei Dosen von 1 mg pro kg finden sich in ihrer Leber weitgehende Schädigungen des Parenchyms.

Beim Kaninchen, bei der Maus und bei der Ratte kommt es bei denselben Dosen vorwiegend zu Veränderungen des Zellkerns. Beim Meerschweinchen tritt unter der Einwirkung von Dioxydiäthylstilben überhaupt nur eine geringe Reaktion des Bindegewebes auf, die in einer Ansammlung von Rundzellen und vereinzelten Leukocyten besteht. Beim Hund endlich sind keine Veränderungen nachzuweisen. Nach diesen Versuchen scheint die Katze besonders geeignet zur Prüfung toxischer Nebenwirkungen von künstlichen Brunststoffen aus der Stilbenreihe. In gleicher Weise eignen sich Katzen für die Untersuchung der Ausscheidung künstlicher Brunststoffe. So konnten wir in orientierenden Versuchen im Blute, in der Galle und im Harn von mit Dioxydiäthylstilben behandelten Katzen den Brunststoff pharmakologisch nachweisen.

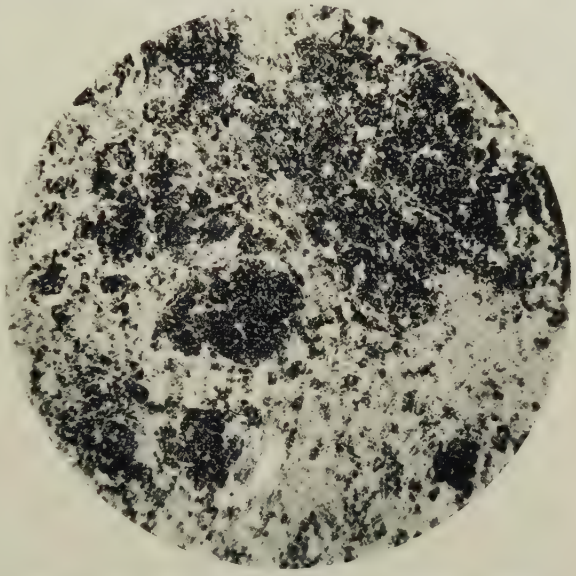


Abb. 5. Leber einer Katze (Katze 3) nach 14tägiger Einwirkung von Dioxydiäthylstilben (Tagesdosis 1 mg/kg subcutan). Diffuse Verfettung. Färbung: Sudan. Vergrößerung: 30fach.

VI. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Wir sind von der Frage ausgegangen, ob die nach kurzdauernder Einwirkung künstlicher Brunststoffe beschriebenen degenerativen Veränderungen in der Leber bei mehrmonatiger Behandlung derartige Ausmaße erreichen können, daß sie zu einer Leberinsuffizienz führen. Diese Frage ist auf Grund unserer Versuchsergebnisse zu verneinen. Ein Teil der Tiere geht zwar während der Behandlung zugrunde. Die Todesursache ließ sich jedoch immer einwandfrei ermitteln, und unterscheidet sich nicht von der Todesursache der Tiere, die mit körpereigenen oestrogenen Substanzen behandelt worden waren. Als Todesursachen wurden eitrige Peritonitis, Pyelonephritis oder Veränderungen der Hypophyse beobachtet.

Verfolgt man die Entstehung, die Entwicklung und das Schicksal der degenerativen Veränderungen in der Leber, dann zeigt sich, daß diese schon nach siebentägiger Behandlung nachzuweisen sind. Sie nehmen zunächst an Stärke zu, und heilen allmählich aus. Das Ausmaß der Ver-

änderungen, der Zeitpunkt ihres Auftretens und das Eintreten der Gewöhnung sind abhängig von der Menge der verabfolgten Substanz und der Art des verwendeten Brunststoffes. Was zunächst die Art des Brunststoffes betrifft, so ist zu sagen, daß die Veränderungen nach Einwirkung von Dioxydiäthylstilbendipropionat immer erheblich geringer sind als die nach Verabfolgung von unverestertem Dioxydiäthylstilben. Die Abhängigkeit der Leberschädigung von der Menge der verwendeten Substanz geht eindeutig aus den mitgeteilten Versuchen an Ratten hervor. Während 1 mg/kg Ratte, d. h. pro 100 g Tier 0,1 mg nach 7 Tagen nur bei einem Teil der Tiere die ersten Zeichen einer Schädigung an den Leberzellkernen hervorruft, ist bei Verwendung von 0,25 mg oder 1 mg pro Tier die Zahl der geschädigten Tiere größer. Gleichzeitig ist der Grad der pathologischen Veränderungen stärker. Es kommt hier zum Untergang der Leberzellen. Im Gegensatz zu den künstlichen Brunststoffen verursachen körpereigene oestrogene Substanzen keine Schädigung der Leber, selbst wenn die täglich verabreichte Gewichtsmenge das Vierfache des künstlichen Brunststoffes beträgt. Aus der Tatsache, daß die Leberveränderungen ausheilen, glauben wir schließen zu müssen, daß eine Gewöhnung an die künstlichen Brunststoffe eintritt. Ob die Annahme der Gewöhnung auch für die spezifischen Wirkungen auf Uterus und Vagina zutrifft, soll in diesem Zusammenhang nicht entschieden werden. Auf diese Möglichkeit weisen jedoch die Beobachtungen von Shorr, Robinson und Papanicolaou[10] hin, welche beim Menschen ein Nachlassen der oestrogenen Wirkung bemerkten. Ähnliche Feststellungen machten wir bei der Ratte[11].

Die Reaktion der Leber auf den künstlichen Brunststoff Dioxydiäthylstilben ist bei allen untersuchten Tierarten grundsätzlich gleich. Die Empfindlichkeit und im Zusammenhang damit die Stärke der pathologischen Veränderungen ist jedoch verschieden. Sie nimmt zu in der Reihenfolge, Hund, Meerschweinchen, Kaninchen, Maus, Ratte, Katze. Gerade diese Tatsache bedeutet, daß die Leberschädigung durch künstliche Brunststoffe nicht nur eine Dosenfrage ist, sondern auch weitgehend bestimmt wird von der Empfindlichkeit des Lebergewebes. Solange nicht bekannt ist, wie sich die menschliche Leber gegenüber körperfremden oestrogenen Substanzen verhält, muß auch hier mit der Möglichkeit einer Leberschädigung gerechnet werden. Wenn sich auch im Tierversuch nachweisen läßt, daß die anatomischen Zeichen der Leberschädigung ausheilen, so darf jedoch nicht übersehen werden, daß bei vielen Tieren neben den Ausheilungsvorgängen immer wieder frische Schädigungen auftreten. Man könnte hiergegen einwenden, diese Beobachtung gelte nur für toxische Dosen. Dieser Einwand ist jedoch insofern nicht berechtigt, als Hinweise dafür vorliegen, daß auch die oestrogene Wirkung infolge der eintretenden Gewöhnung an die Substanz nachläßt. Nimmt man an, daß die therapeutische Dosis beim Menschen

[10] Shorr, Robinson und Papanicolaou: J. Am. Med. Ass. 1939, 2312. — [11] Grumbrecht und Loeser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 41 (1939).

zur Erzielung der spezifisch-oestrogenen Wirkung unter der toxischen Dosis liegt, so ist es ohne weiteres denkbar, daß man im Hinblick auf das Nachlassen der oestrogenen Wirkung des verabreichten Brunststoffes gezwungen ist, höher zu dosieren und damit schließlich eine toxische Dosis erreicht. Es ist daher zu verlangen, daß künstliche Brunststoffe nicht wahllos verabfolgt und dosiert werden. Das gilt insbesondere für den unveresterten Brunststoff Dioxydiäthylstilben. Obwohl die Veresterung schon einen erheblichen Schutz bedeutet, vermag sie die toxischen Nebenwirkungen nicht vollkommen aufzuheben.

VII. Zusammenfassung.

1. Bei Dauerzufuhr hoher Dosen Dioxydiäthylstilben geht ein Teil der behandelten Tiere zugrunde. Veränderungen der Leber, die mit dem Tod der Tiere in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden können, sind dabei nicht nachzuweisen. Die Todesursachen sind vielmehr die gleichen, wie nach Einwirkung körpereigener Brunststoffe: Peritonitis, Pyelonephritis oder Veränderungen der Hypophyse.

2. Die degenerativen Veränderungen in der Leber, die nur nach Einwirkung künstlicher Brunststoffe auftreten, heilen während der Behandlung aus. Die Ausheilungsvorgänge in der Leber werden auf eine Gewöhnung des Organismus an die körperfremden oestrogenen Substanzen zurückgeführt.

3. Die degenerativen Veränderungen in der Leber sind bei den verschiedenen Tierarten grundsätzlich gleich. Die Stärke der Schädigung ist nach Einwirkung von Dioxydiäthylstilbendipropionat immer erheblich geringer als nach Einwirkung von Dioxydiäthylstilben.

4. Die Empfindlichkeit der Leber gegenüber künstlichen Brunststoffen ist bei den einzelnen Tierarten verschieden und nimmt in der Reihenfolge Katze, Ratte, Maus, Kaninchen, Meerschweinchen, Hund ab.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Ausgeführt mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Freiburger Wissenschaftlichen Gesellschaft.

Für die Überlassung der erforderlichen Substanzen sei auch an dieser Stelle den Firmen I. G. Farbenindustrie, Elberfeld; Merck, Darmstadt und Schering A.-G., Berlin, gedankt.

Nachtrag bei der Korrektur. Die Ausdehnung und Stärke der beschriebenen Leberveränderungen scheint, wie neuere eigene Untersuchungen ergeben haben, weitgehend von der Ernährung der Tiere abhängig zu sein. Je geringer das Glykogendepot der Leber bei kohlehydratfreier Kost ist, um so stärker scheint die Leber mit Veränderungen zu reagieren. Diese Feststellung erklärt vermutlich auch die Befunde anderer Autoren, die in ihren Versuchen gar keine oder nur geringe Veränderungen nachweisen konnten.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Studien über Methämoglobinbildung.

XIX. Mitteilung: Rückbildung des Methämoglobins bei verschiedenen Tierarten.

Von

Gerd Gelinsky.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. Juni 1940.)

I.

An Katzen ist die Rückbildungszeit von Methämoglobin in Abwesenheit eines vergiftenden Systems bekannt.

Moebus[1] und nach ihm F. Jung[2] entbluteten Katzen teilweise und reinfundierten die vom Giftbildner freigewaschenen Blutkörperchen intravenös nach Umwandlung des Blutfarbstoffs in Methämoglobin. Die Rückbildungszeit erwies sich nach Jung als abhängig von der Methämoglobinkonzentration im Blute. Nach etwa 8 Stunden war bei Katzen der größte Teil des Methämoglobins aus dem Blute verschwunden.

Zweck vorliegender Versuche war es nun festzustellen, wie sich die Rückbildungszeit des Methämoglobins bei anderen Versuchstieren verhält. Untersucht wurden Ratten und Kaninchen.

II. Methodik.

Die Tiere wurden gemäß der Versuchsanordnung von Jung in schwacher Urethannarkose gehalten und nur während der Freilegung der Halsgefäße mit Äther tiefer narkotisiert. Das Blut wurde aus der Carotis entnommen und im Überschuß mit einer isotonischen Lösung von 0,6 % Natriumnitrit und 0,4 % Kochsalz versetzt. Nach Braunfärbung wurde abzentrifugiert und dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung nachgewaschen. Der so erhaltene methämoglobinhaltige Blutkörperchenbrei wurde zu gleichen Teilen mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und langsam in die Vena jugularis injiziert. Während bei Kaninchen für

[1] Heubner u. Möbus: Verh. dtsch. pharmak. Ges. **1938**, S. 223. — [2] F. Jung: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 464 (1939).

alle Blutentnahmen die Einlegung einer Dauerkanüle in die Carotis genügte, mußte bei Ratten das Gefäß nach doppelter Unterbindung durchtrennt und für jede Blutentnahme erneut die Kanüle in das zentrale Ende eingeführt werden. Da die Ratten von etwa 350 g einen größeren Blutverlust (von etwa 6 ccm) für die Zeit der außerhalb des Körpers erfolgenden Umwandlung des Blutfarbstoffs in Methämoglobin nicht vertrugen, wurde jeweils eine Ratte entblutet und deren umgewandelte Blutkörperchen in etwa 4—8 ccm Suspension einer zweiten kurz nach einer Blutentnahme von 2–6 ccm injiziert. Bei den Kaninchenversuchen wurden etwa zehnfache Blutmengen am gleichen Tiere ausgetauscht und nur in einigen Fällen Blutkörperchenbrei eines zweiten Tieres mit injiziert. Nachstehende Aufstellung gibt nähere Einzelheiten:

	Blutentnahme ccm	Reinjektion ccm	Das Tier nach dem Versuch
Ratte 1	2	2	überlebt
„ 2	4	6	„
„ 3	4	6	Tötung durch Äther
„ 4	4	6	Tötung durch Entblutung
„ 5	6	6	überlebt
„ 6	5	7	„
„ 7	7	8	Tod etwa 2 Std. später
Kaninchen 1	40	30	Tod 2 Tage später
„ 2	55	50	überlebt
„ 3	50	75	Tod bei Versuchsende
„ 4	30	50	überlebt
„ 5	35	43	„
„ 6	30	30	„

Direkt vor und direkt nach der Injektion und in weiteren Abständen von 10—30 Minuten wurden je 0,2 ccm Blut zur Kontrolle entnommen und in 5 ccm destilliertem Wasser hämolysiert. Die so gewonnenen Proben wurden zum Teil mit, zum Teil ohne Zusatz von gleichen Teilen Phosphat-Pufferlösung nach Sörensen mit einem p_H von 6,9 durch Zentrifugieren von Fibrin befreit. Dann wurde der Methämoglobingehalt der Proben kolorimetrisch nach Havemann, v. Issekutz und Jung[3] bestimmt und in Absolutprozenten angegeben.

In einem Versuche (an Ratte 2) habe ich nach Durchführung der Messung alle Proben, die ja eine Mischung von Oxyhämoglobin und Cyanmethämoglobin, also zweier sehr ähnlich gefärbter Stoffe, enthielten, untereinander auf ihren Farbwert im Kompensationskolorimeter nach

[3] Havemann, R., B. v. Issekutz jun. u. F. Jung: Biochem. Z. **301**, 116 (1939).

Bürker verglichen und dabei volle Übereinstimmung gefunden; ein Verlust von Blutfarbstoff war also trotz des anfangs reichlichen Anteils an Methämoglobin nicht eingetreten.

III. Versuchsergebnisse.

In Kurve 1 sind die Ergebnisse der Rattenversuche zusammengestellt, in Kurve 2 die der Kaninchenversuche. Kurve 3 zeigt zum Vergleich das

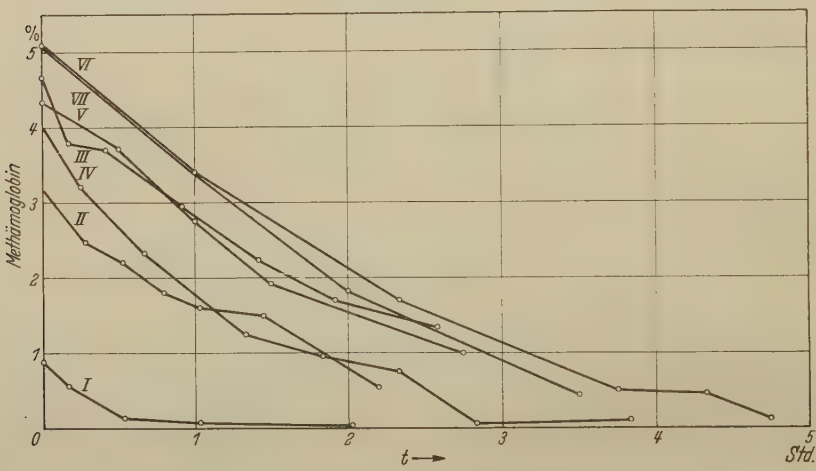


Abb. 1. Abfall des Methämoglobins bei Ratten. Ordinate: Methämoglobin, Absolutwerte (g in 100 ccm Blut). Abszisse: Stunden.

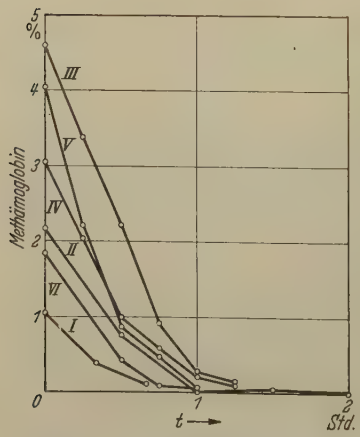


Abb. 2. Abfall des Methämoglobins bei Kaninchen. Bezeichnung wie Abb. 1.

von Jung[2] an Katzen gewonnene Ergebnis. t bedeutet die Zeit, die seit Abschluß der Methämoglobin-Blutkörperchen-infusion verflossen ist, b den Methämoglobingehalt des Blutes in Absolutprozenten.

Streuungen bei den einzelnen Messungen sind vor allem durch die Technik bedingt. Bei den Blutentnahmen von 0,2 ccm nämlich ließ sich nicht immer vermeiden, daß Luft mit angesaugt wurde. Besonders bei Ratten konnte der dabei entstehende Schaum nicht immer restlos von der Blutprobe getrennt werden; Wiederholungen der Blutentnahme hätten die Blutreserven der Tiere allzufrüh erschöpft.

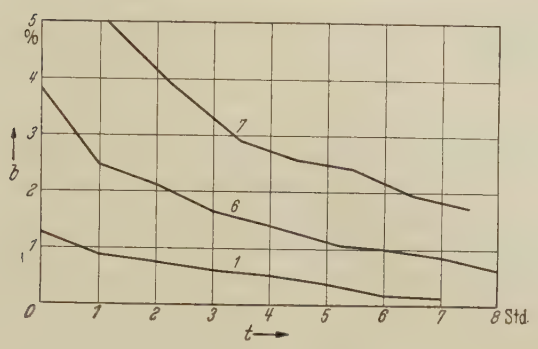


Abb. 3. Abfall des Methämoglobins bei Katzen [nach F. Jung, Naunyn-Schmiedebergs Arch. 192, 470 (1939)]. Bezeichnung wie Abb. 1. Die Abszisse hat jedoch einen $2\,^1/_2$ mal kürzeren Maßstab als in Abb. 1 und 2.

IV. Besprechung.

Die Versuche bestätigen die Beobachtung von Jung[2], daß die Rückbildungsgeschwindigkeit von der absoluten Menge des Methämoglobins im Blute abhängig ist.

Die Rückbildungszeit im Verhältnis zu der Methämoglobinkonzentration ist für jede Tierart annähernd konstant. Dies zeigen besonders die Rattenversuche 6 und 7, bei denen zufällig die Methämoglobinkonzentration zu Beginn der Versuche gleich gefunden wurde. Ein wesentlicher Unterschied im Verlauf der Rückbildungskurven trat nicht auf, obgleich das eine Tier kurz nach Abschluß des Versuchs an Kreislaufinsuffizienz starb und nur das andere den Versuch ohne wesentliche Beeinträchtigung überlebte.

Während nach Jung[2] bei Katzen die Rückbildung des Methämoglobins bei Anfangswerten um 5% noch nach 8 Stunden nicht endgültig abgeschlossen war, zeigte sie sich bei Ratten bereits nach 4 Stunden und bei Kaninchen schon nach 1 Stunde im wesentlichen als beendet.

Dieser Unterschied der drei genannten Tierarten steht in einem klaren Verhältnis zu ihrer Empfindlichkeit gegenüber methämoglobinbildenden Giften. Bekanntlich sind Katzen hochgradig empfindlich, Kaninchen sehr wenig empfindlich, während Ratten in der Mitte stehen. An diesen Tieren benötigte Jung[4] die doppelte Dosis Phenylhydroxylamin, wie bei Katzen, um wenigstens den nahezu gleichen Grad von Methämoglobinbildung zu erhalten. In vitro ist ein Unterschied des Blutes der 3 Tierarten gegenüber

[4] Jung, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch., **195**, 208 (1940).

direkten Methämoglobinbildnern sehr viel weniger ausgesprochen oder überhaupt nicht vorhanden. Die in vivo auftretende Menge Methämoglobin, die bei manchen Giften, z. B. Nitrit, unmittelbar maßgebend für die Schwere der Vergiftung ist, stellt offenbar die Resultante von zwei konkurrierenden Vorgängen dar: Der Bildung des Methämoglobins durch die Reaktion mit dem Gift und zweitens einer Rückbildung durch die Reaktion mit den reduzierenden Stoffen der Körpergewebe. Je schneller der zweite Vorgang, desto geringer muß das Ergebnis des ersten bleiben, auch wenn dessen Intensität stets gleich ist. Die zunehmende Reduktionskraft der Gewebe in der Reihenfolge Katze, Ratte, Kaninchen ist also sicherlich ein maßgebender Faktor bei der verschiedenen Empfindlichkeit dieser 3 Tierarten gegenüber methämoglobinbildenden Giften.

Aus der Medizinischen Universitätspoliklinik Breslau.
(Leiter: Prof. Dr. A. Bittorf.)

Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens.

I. Der Kohlehydratgehalt des menschlichen Herzens bei verschiedenen Erkrankungen.

Von
Dozent Dr. **Liebig.**

(Eingegangen am 3. Juni 1940.)

Die Anregung zu den folgenden Untersuchungen gab die Tatsache, daß uns die pathologische Anatomie die Frage, warum bei den verschiedensten Erkrankungen in dem einen Fall das Herz seinen Dienst versagt, während es in dem anderen den erhöhten Anforderungen, die viele Krankheiten an den Kreislaufapparat stellen, ohne Schwierigkeiten gerecht wird, sehr oft nicht befriedigend zu beantworten vermag. Es besteht sehr oft ein Mißverhältnis zwischen der funktionellen Leistungsfähigkeit des Herzens und dem anatomischen Herzbefund. Diese Tatsache legte den Gedanken nahe, daß vielfach nicht anatomisch faßbare Veränderungen des Herzmuskels für sein Erlahmen verantwortlich zu machen sind, sondern daß ihm möglicherweise Störungen des Herzstoffwechsels zugrunde liegen. Es wäre einmal denkbar, daß bei irgendwelchen Krankheiten, insbesondere solchen, die mit einer allgemeinen Kachexie einhergehen, infolge mangelhaften Angebotes von Nährstoffen, der Stoffwechsel des Herzens und damit sekundär seine Funktion in Mitleidenschaft gezogen wird, es wäre aber auch vorstellbar, daß das Herz primär, etwa als Folge einer Herzmuskelerkrankung, seine Fähigkeit, die ihm zugeführten Nährstoffe in normaler Weise zu verarbeiten, verliert.

Unsere Kenntnisse über den Stoffwechsel des Herzens sind im Gegensatz zu dem des Skeletmuskels noch recht gering. Während die überragende Bedeutung der Kohlehydrate für den Stoffwechsel des Skeletmuskels heute allgemein anerkannt wird, und die Kohlehydrate als die Hauptquelle der Skeletmuskelkraft und der Skeletmuskeltätigkeit gelten, sind die Ansichten über die Rolle, die sie im Herzstoffwechsel spielen, noch recht geteilt. Sie werden beherrscht von den Ergebnissen der Untersuchungen am isolierten Herzen des Kalt- und Warmblüters und am Starlingschen Herz-Lungenpräparat, die zum Teil recht widersprechend sind. Sie können naturgemäß niemals einen Aufschluß über die Verhältnisse im lebenden Organismus geben. Wissen wir doch gerade vom Kohlehydratstoffwechsel, wie sehr er an die Zusammenarbeit der ver-

schiedensten Organe gebunden ist und wie sehr er durch die übergeordnete nervöse Regulation und hormonale Steuerung beeinflußt wird. Gegen die Richtigkeit der Anschauung, daß die Kohlehydrate nur eine untergeordnete Bedeutung für den Herzstoffwechsel hätten, die auf Grund der Versuchsresultate am isolierten Organ vertreten wurde, sprechen die am unversehrten Tier gewonnenen Ergebnisse. So zeigte vor allem Junkersdorf[1], daß das Herz des Hundes nach Hungertagen und nach einseitiger Ernährung des Tieres auch dann noch bestrebt ist, seinen Glykogengehalt zäh zu bewahren, ja zu vermehren, wenn er in der Skeletmuskulatur bereits stark vermindert ist. Dieses Verhalten des Herzmuskels wäre aber nicht recht verständlich, wenn die Kohlehydrate für seinen Energiehaushalt nur die untergeordnete Bedeutung hätten, die ihnen auf Grund der Versuchsresultate am isolierten Organ vielfach zugewiesen wurde. Der Widerspruch, der sich zwischen letzteren und dem durch die oben erwähnten Versuche experimentell erhärteten Bestreben des Herzens ergab, seinen Kohlehydratgehalt allen äußeren Einflüssen gegenüber auf jeden Fall zu verteidigen, führte zum Beschreiten völlig neuer Wege. Während man sich bisher damit begnügte, nur auf das Verhalten des Glykogens zu achten, und dabei den schnellen postmortalen Glykogenabbau überhaupt nicht berücksichtigte, hat Schenk[2] als erster versucht, eine vollständige Kohlehydratbilanz des Warmblüterherzens unter verschiedenen Bedingungen aufzustellen, indem er nicht nur das Glykogen, sondern auch die Gesamtkohlehydrate und die Milchsäure im Herzmuskel unter möglichst physiologischen Verhältnissen und unter weitgehender Vermeidung postmortaler Veränderungen bestimmte. Auf die Ergebnisse der erwähnten experimentellen Untersuchungen wird im experimentellen Teil dieser Arbeit noch näher einzugehen sein.

Von den oben genannten Vermutungen ausgehend, daß vielleicht Störungen des Herzstoffwechsels ursächlich für das Versagen des Herzens bei manchen Erkrankungen in Frage kämen, hat man sich wiederholt mit der chemischen Zusammensetzung des menschlichen Herzmuskels bei den verschiedensten Krankheiten beschäftigt. So stellte Krehl[3] chemisch den Fettgehalt des menschlichen Herzens bei Phosphorvergiftung, schwerer Anämie, bösartigen Geschwülsten, Lungentuberkulose, Herzkrankheiten, chronischer Nephritis, Infektionskrankheiten und Alkoholismus fest, konnte aber Beziehungen zwischen der Schwäche der Herzaktion und dem Ausmaß der fettigen Degeneration nicht nachweisen. Lederer und Stolte[4] fanden in den Herzen eines an Scharlach und eines an Diphtherieherztod verstorbenen Kindes bei der Untersuchung des N-, S-, P-, Cl-, Ka- und Na-Gehaltes keinen Unterschied gegenüber dem Herzen eines

[1] Junkersdorf u. Hanisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **123**, 229 (1927). — [2] Schenk: Pflügers Arch. **202**, 313, 329, 337 (1923). — [3] Krehl: Dtsch. Arch. klin. Med. **51**, 413 (1893). — [4] Lederer u. Stolte: Biochem. Z. **35**, 108 (1911) u. Jb. Kinderhk. **74**, 395 (1911).

nach einer Verbrennung verstorbenen Kindes. Berblinger[5] gelang es nicht, histologisch den Nachweis einer Abhängigkeit des Glykogengehaltes des menschlichen Herzens von der zum Tode führenden Krankheit zu erbringen. Bestimmend für den Glykogenreichtum des Herzens ist nach ihm der Einfluß der Krankheit auf den Ernährungszustand. Doch führen nicht alle kachektischen Zustände zu Glykogenschwund. Becher[6] fand die niedrigsten RN-Werte in den Herzen Lungentuberkulöser, die höchsten in denen Nierenkranker. Emmerich und Domagk[7] untersuchten 38 menschliche Leichenherzen auf ihren Gehalt an koagulablem Eiweiß, auf den RN- und Fettbestand und prüften das Trockengewicht. Ersteres war bei hypertrophischen Herzen vermehrt. Hohe RN-Zahlen waren vor allem bei akuter gelber Leberatrophie und bei Nierenerkrankungen festzustellen. Scott[8] konnte in 57 Leichenherzen, die allerdings bereits längere Zeit in Formalin gelegen hatten, keine Beziehungen zwischen der Trockensubstanz, dem Aschengehalt und dem P- und Mineralgehalt und der Art der Krankheit oder dem Alter des Verstorbenen finden. Nach den Untersuchungen von Urban[9] besitzen alle von ihm daraufhin nachgeprüften normalen, hypertrophischen und atrophischen menschlichen Herzen ziemlich konstante Phosphatidwerte, so daß das Verhalten der Phosphatide mit dem Versagen des Organs nicht in Zusammenhang zu bringen ist. Bodansky und Pilcher[10] fanden in 310 frischen Leichenherzen in weiten Grenzen schwankende Kreatinwerte, die in keinen Beziehungen zu Alter, Todesursache oder agonalen Erscheinungen stehen. Im allgemeinen ist aber bei Erwachsenen der Kreatingehalt im linken Ventrikel größer als im rechten. Er sinkt bei Überlastung eines Herzteiles und ist daher im rechten Ventrikel bei schweren Lungenerkrankungen und angeborenen Herzfehlern besonders niedrig. Nach Linegar, Frost und Meyers[11] sinkt der Kreatingehalt in dekompensierten Herzen in beiden Herzhälften beträchtlich. Nur wenig vermindert ist er bei Diabetikern und bei Carcinomkranken. Er kann beträchtlich zunehmen bei Urämie unter der Voraussetzung, daß das Herz leistungsfähig geblieben ist, und bei Pneumonie. Bei den genannten Krankheiten ändert sich jedoch auch der Kreatingehalt der Skeletmuskulatur im gleichen Sinne, wenn auch keine festen Beziehungen zwischen dem Kreatinbesitz beider Muskelarten bestehen. In neuester Zeit bestimmte Lasch[12] den Gesamtkohlehydratgehalt in 100 menschlichen Leichenherzen mit einer kolorimetrischen Methode (nach Dische und Popper). Bei klinisch Herzgesunden fand

---

[5] Berblinger: Zieglers Beitr. Path. Anat. **53**, 155 (1912). — [6] Becher: Dtsch. Arch. klin. Med. **128**, 129, 135 (1919, 1921). — [7] Domagk: Z. klin. Med. **98**, 171 (1924) und Emmerich u. Domagk: Klin. Wschr. **1924**, S. 62. — [8] Scott: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **27**, 79 (1929); ref. Ronaber. **54**, 775 (1930). — [9] Urban: Biochem. Z. **293**, 264 (1937). — [10] Bodansky u. Pilcher: Arch. int. Med. (Am.) **59**, 232 (1937). — [11] Linegar, Frost u. Meyers: Arch. int. Med. (Am.) **61**, 430 (1938). — [12] Lasch: Z. exper. Med. **83**, 36 (1932) u. Klin. Wschr. **1932**, S. 643.

er im linken Ventrikel Gesamtkohlehydratwerte zwischen 0,400 und 1,000 g%, im rechten zwischen 0,280 und 0,700 g%. Die Zahlen bei klinisch Herzkranken weichen nicht wesentlich davon ab. Nur bei klinisch dekompensierten Herzen liegen die Werte erheblich niedriger und es fehlt bei ihnen nahezu oder völlig der Unterschied zwischen der linken und der rechten Herzkammer, von denen normalerweise die linke kohlehydratreicher ist. Eine direkte Abhängigkeit des Gesamtkohlehydratwertes von der Herzgröße und der Dauer und Art der Erkrankung war nicht nachzuweisen. Bei Tuberkulose, Krebs. Sepsis und Pneumonie weichen die Befunde bei einem großen Teil der untersuchten Fälle in keiner Weise von den übrigen ab, bei zahlreichen anderen dagegen ist sowohl der Gesamtkohlehydratvorrat wesentlich verringert als auch der Unterschied zwischen links und rechts verschwunden. Die Mehrbelastung des rechten Herzens äußert sich unter zahlreichen Fällen nur bei drei schweren Mitralfehlern in einem größeren Gesamtkohlehydratreichtum der rechten Herzkammer gegenüber der linken. Der Wassergehalt der Herzmuskulatur ist bei allen Herzen unabhängig von der Art des zum Tode führenden Leidens ziemlich konstant, und zwar auch in dem Verhältnis zwischen links und rechts. Außer Lasch untersuchte Blume[13] in 19 menschlichen Leichenherzen den Gesamtkohlehydratgehalt, und zwar mit chemischen Methoden. Bei den drei Herzen, in denen er die Muskulatur des rechten und linken Ventrikels berücksichtigte, ist die linksseitige kohlehydratreicher. Von den übrigen Herzen verwandte er nur die Muskulatur der rechten Herzkammer. Die Zahlen schwanken zwischen 0,450 und 0,960 g%, wenn man von dem Herzen eines an einer Grippeintoxikation verstorbenen Säuglings absieht, das einen Gesamtkohlehydratgehalt von 1,460 g% aufweist. Gesetzmäßige Beziehungen zwischen dem Kohlehydratdepot des Herzens und der Art der Erkrankung bestehen nicht. Noch größere Schwankungen zeigen die Glykogenwerte in den 50 daraufhin untersuchten Herzen, die bei Erwachsenen zwischen 0,045 und 0,540 g% und bei Säuglingen zwischen 0,121 und 1,244 g% liegen.

Eine eindeutige Klärung des Stoffwechselgeschehens im menschlichen Herzen und insbesondere einen Aufschluß über die Rolle der Kohlehydrate im Rahmen des Gesamtstoffwechsels des Herzens haben die bisherigen darauf hinzielenden Untersuchungen im menschlichen Leichenherzen nicht erbracht. Weder die von Lasch noch die von Blume gewonnenen Ergebnisse gestatten eine sichere Auswertung, da die einzelnen Werte viel zu große Schwankungen aufweisen, und deswegen irgendwelche gesetzmäßigen Beziehungen aus ihnen nicht zu ersehen sind. Die Ursache dieser großen Schwankungen ist aber zweifellos teilweise darin zu suchen, daß beide Autoren die postmortale Milchsäurebildung nicht berücksichtigten, durch die der Kohlehydratgehalt des Herzens eine von Fall zu Fall recht

[13] Blume: Beitr. path. Anat. **93**, 20 (1934).

verschiedene, jedenfalls aber im einzelnen nicht zu übersehende Veränderung erfährt. Die von ihnen gefundenen Werte können also dem physiologischen Kohlehydratgehalt des Herzens im Augenblick des Todes sicher nicht entsprechen.

Wir haben uns daher im Rahmen unserer Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens zunächst die Aufgabe gestellt, den Versuch zu machen, eine vollständige Kohlehydratbilanz des menschlichen Herzens aufzustellen, soweit das heute überhaupt möglich ist, und den Einfluß der verschiedensten Krankheiten auf sie zu prüfen.

Eigene Untersuchungen.

Die methodischen Schwierigkeiten, eine exakte Kohlehydratbilanz zu gewinnen, die den physiologischen Verhältnissen im Augenblick des Todes entspricht, sind groß, weil der postmortale fermentative Kohlehydratabbau unmittelbar nach dem Tode beginnt und selbst im Tierexperiment bei schnellstem Arbeiten und bei Verwendung modernster Methoden zur sofortigen Hemmung der Fermentwirkung in der Zeit zwischen dem Tode des Tieres und dem Einbringen der Muskeln und Organe in flüssige Luft unübersehbare Veränderungen hervorruft. Die postmortale Milchsäurebildung wird außerdem durch mechanische und chemische Reize, die auch bei schonendstem Vorgehen nicht zu vermeiden sind, beträchtlich gefördert, worauf bereits Fletscher und Hopkins[14] hinwiesen. Beim Arbeiten mit menschlichen Leichenherzen kommt noch hinzu, daß die Zeitspanne, die zwischen Tod, Sektion und chemischer Verarbeitung der Muskeln und Organe liegt, verhältnismäßig groß und bei den einzelnen Untersuchungen oft recht verschieden lang ist. Mit dieser Schwierigkeit hatten wir ganz besonders zu kämpfen, weil den Erfordernissen des pathologisch-anatomischen Unterrichtes Rechnung getragen werden mußte, und wir die Herzen infolgedessen oft erst recht geraume Zeit nach dem Tode erhalten konnten. Die Zeit, die zwischen Tod und chemischer Verarbeitung des Herzens lag, betrug im allgemeinen nicht über 36 Stunden, meist aber weniger. Der postmortale Kohlehydratabbau geht, da es sich ja praktisch um anaerobe Verhältnisse handelt, nicht über die Milchsäurestufe hinaus. Als Ausgangsprodukt für die Milchsäurebildung kommen nur die Kohlehydrate in Betracht. Aus den ausgedehnten Untersuchungen von Parnas und Wagner[15] und vor allem von Meyerhof[16] wissen wir, daß im Muskel unter allen von ihnen geprüften Bedingungen eine volle Äquivalenz zwischen anaerob gebildeter Milchsäure und geschwundenen Kohlehydraten besteht, und zwar im Sinne der „hälftigen Teilung" des Zuckers nach der Harden-Young-Meyerhofschen Gleichung (s. das Schema der Milchsäurebildung

[14] Fletscher u. Hopkins: J. Physiol. (Brit.) **35**, 247 (1907). — [15] Parnas u. Wagner: Biochem. Z. **61**, 387 (1914). — [16] Meyerhof: Die chem. Vorgänge im Muskel. Berlin, Julius Springer, 1930.

bei Meyerhof und Kiessling[17]), nach der 1 mol. Hexose 2 mol. Milchsäure entspricht. Wir haben uns daher für berechtigt gehalten, die Milchsäure bei unseren Untersuchungen auf den äquivalenten Traubenzuckerwert umzurechnen (Molekulargewicht der Milchsäure 90,05, des wasserfreien Traubenzuckers 180,0) und zu der Gesamtkohlehydratsumme zu addieren. Bei diesem Vorgehen können wir erwarten, alle im Herzmuskel vorhandenen Kohlehydrate und den weitaus größten Teil ihrer Abbauprodukte zu erfassen, soweit das unter den gegebenen Verhältnissen und bei unseren heutigen Kenntnissen überhaupt möglich ist, und die zur Zeit mögliche vollständigste und exakteste Kohlehydratbilanz des Herz- und Skeletmuskels aufzustellen. Zwei Schwierigkeiten sind aber noch zu berücksichtigen. Einmal müssen wir auf Grund der Mitteilungen Haarmanns[18] vielleicht mit einem postmortalen Milchsäureschwund rechnen. Schon früher hatte v. Fürth[19] darauf hingewiesen, daß bei langdauernder Autolyse eine Milchsäurezerstörung vor sich gehen kann. Dieser Milchsäureschwund bleibt dann freilich eine nicht zu berechnende Größe. Zweitens ist eine methodische Schwierigkeit insofern vorhanden, als wir bis heute keine völlig einwandfreie Methode der Gesamtkohlehydratbestimmung im Gewebe kennen. Nach v. Fürth[20] läßt sich vorläufig noch nicht einmal sagen, inwieweit Zucker und inwieweit andere Substanzen an den Reduktionsvorgängen im Muskel beteiligt sind. Laquer[21] hebt hervor, daß der Beweis dafür, daß bei dreistündigem Kochen in 2%iger Salzsäurelösung alle Kohlehydrate des Muskels in reduzierende Zucker gespalten würden, noch ausstehe. Nach einer Mitteilung von Grevenstuck[22] ist die quantitative Zunahme des reduzierenden Vermögens durch die Hydrolyse für jeden einzelnen Fall verschieden. Auch wurden durch die Eiweißfällung durchaus nicht alle reduzierenden Aminosäuren gefällt, wie Versuche mit künstlich zugesetzten Aminosäuren ergaben. Haarmann gibt neuerdings an[23], daß bei seinen Versuchen über den Abbau von Glykogen und Glucose in verschiedenen Geweben die quantitativen Beziehungen zwischen Kohlehydratschwund und Milchsäurebildung nicht vollkommen übereinstimmten, die Kohlehydratabnahme sei zumeist größer als die Milchsäurezunahme, und zwar in besonders großem Ausmaß beim Herzmuskel. Als eine der möglichen Ursachen für diese Erscheinung führt er an, daß höhermolekulare reduzierende Kohlehydrate, die in ihrer Fällbarkeit durch Agenzien dem Glykogen naheständen, durch die Enteiweißung mit niedergerissen werden könnten. Auch wir hatten bei der Gesamtkohlehydratbestimmung mit diesen Schwierigkeiten zu kämpfen. Eine Bestimmung des Trockengewichtes haben wir bei den menschlichen

---

[17] Meyerhof u. Kiessling: Biochem. Z. **283**, 83 (1935). — [18] Haarmann: Biochem. Z. **256**, 326 (1932). — [19] v. Fürth: Handb. d. Biochem. von C. Oppenheimer, IV, 305 (1925) und v. Fürth u. F. Lieben: Biochem. Z. **128**, 144 (1922). — [20] v. Fürth: Handb. d. Biochem. von C. Oppenheimer, VIII, 31 (1925). — [21] Laquer: Z. physiol. Chem. **118**, 215 (1922). — [22] Grevenstuck: Ndld. Tschr. Geneesk. **1929**, I, S. 495; ref. Ronaber. **50**, 526 (1929). — [23] Haarmann: Biochem. Z. **255**, 142 (1932).

Leichenherzen nicht durchgeführt. Es beträgt nach Krehl[24]) in gesunden Herzen im Durchschnitt 79,5 % bei einem Maximum von 80,3 % und einem Minimum von 78,6 % und ist unter pathologischen Verhältnissen gewöhnlich etwas erhöht. Auch Domagks[25] Tabellen ergaben keine sehr beträchtlichen Schwankungen. Lasch[26] fand in 14 verschiedenen Herzen links einen Wassergehalt zwischen 77,1 und 82,4 %, im rechten Ventrikel zwischen 75,2 und 81,7 %. Das Unterlassen der Trockensubstanzbestimmung bei unseren Fällen wird also einen ausschlaggebenden Einfluß auf die Beurteilung der Ergebnisse kaum ausüben. ganz abgesehen davon, daß der Wert der Umrechnung auf den Trockengehalt noch durchaus umstritten und seine Berechtigung sehr zweifelhaft ist.

Methodik.

Die Leichenherzen wurden nach erfolgter Sektion möglichst umgehend verarbeitet. War das aus Gründen des Unterrichtes nicht möglich, so wurden sie in der Zwischenzeit im Kühlraum aufbewahrt und längstens 24 Stunden nach der Sektion untersucht. Die für die Bestimmungen erforderlichen Muskelstückchen wurden unter Vermeidung des glykogenreichen Septums aus den Kammerwänden entnommen, sorgfältig von Fett, Bindegewebe und Papillarmuskulatur freipräpariert und dann in einer kleinen Fleischmaschine zu einem feinen Muskelbrei zermahlen. Von diesem wurden zur Bestimmung des Glykogens, der Gesamtkohlehydrate und der Milchsäure je 5 g abgewogen. Das Glykogen wurde nach der Foersterschen Modifikation der Pflügerschen Methode gewonnen und als Glucose nach Hagedorn-Jensen bestimmt[27, 28]. Die Bestimmung der Gesamtkohlehydrate wurde nach Lesser[29] vorgenommen, aber aus den oben erwähnten Gründen von einer Eiweißfällung abgesehen. Da Vorversuche gezeigt hatten, daß eine nur zweistündige Hydrolyse eine ungenügende Ausbeute ergab, wurde sie auf 5—6 Stunden ausgedehnt. Die Zuckerbestimmung im Filtrat erfolgte ebenfalls nach Hagedorn-Jensen. Die Milchsäurewerte wurden nach der Methode von Hirsch-Kauffmann[30] gewonnen.

Ergebnisse.

Frühere Untersuchungen an menschlichen Leichenherzen hatten ein wenig befriedigendes Ergebnis. Die gefundenen Zahlen wiesen bei den einzelnen Fällen sehr große Schwankungen auf. Insbesondere war die Ausbeute an Gesamtkohlehydraten ungenügend. Dafür waren die Milchsäurewerte unverhältnismäßig hoch. Das beruhte einmal darauf, daß wir damals das Untersuchungsmaterial erst sehr lange nach der Sektion erhalten konnten, und es mangels geeigneter Kühlanlagen nicht entsprechend

---

[24] Krehl: Dtsch. Arch. klin. Med. **51**, 416 (1893). — [25] Domagk: a. a. O. — [26] Lasch: a. a. O. — [27] Foerster: Handb. biol. Arbeitsmeth. **2**, 1970. — [28] Hagedorn-Jensen: Biochem. Z. **135**, 46 (1923). — [29] Lesser: Ebenda **103**, 1 (1920). — [30] Hirsch-Kauffmann: Z. physiol. Chem. **140**, 25 (1924).

vorbehandelt war. Zweitens war die damals benutzte Methode der Gesamtkohlehydratbestimmung unzureichend. Immerhin ergaben die damaligen Untersuchungen insofern ein gesetzmäßiges Verhalten, als die Kammermuskulatur des linken Herzens stets kohlehydratreicher war als die des rechten. Ein umgekehrtes Verhalten zeigte nur das Herz eines an Kehlkopfcarcinom und Pneumonie verstorbenen Mannes, bei dem die Kohlehydratwerte des linken und rechten Herzens sich völlig entsprachen. Diese Befunde stimmten gut mit den Angaben von Lasch [31] überein, der seine Untersuchungen zur gleichen Zeit durchführte. Auch Lasch fand einen größeren Kohlehydratreichtum im linken Ventrikel. Das Verhältnis war aber umgekehrt bei drei schweren Mitralfehlern. Es lag also der Schluß nahe, daß eine Überlastung des rechten Herzens einen erhöhten Kohlehydratvorrat im Vergleich zum linken im Gefolge habe. Auffallend war ferner, daß die Tumorkachexie den Kohlehydratgehalt des Herzens so wenig beeinflußte und die Kohlehydratwerte bei chronischen Lebererkrankungen (Cirrhose, Tumormetastasen) besonders niedrig waren.

Die folgenden Untersuchungen wurden gemeinsam mit Theuerling [32] durchgeführt und sind teilweise in seiner Doktordissertation bereits mitgeteilt. Es wurden im ganzen 49 Leichenherzen untersucht. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt. In ihnen bedeutet GKH Gesamtkohlehydrate, d. h. Glykogen + Zwischenkohlehydrate, und ber. KH-Bestand (berechneter KH-Bestand) Gesamtkohlehydrate + zur Milchsäure abgebaute Kohlehydrate. Die einzelnen Fälle sind für die Berechnung der Durchschnittswerte in Gruppen zusammengefaßt (Tabelle 2). Dabei wurde Krankheitsfall Nr. 31 zweimal aufgezählt, einmal unter den Herz-Gefäßkrankheiten und zweitens bei Gruppe 7, in der die zu einer Überbeanspruchung des rechten Herzens führenden Krankheiten zusammengestellt sind. Herzen mit reinen Mitralfehlern, bei denen die Mehrbelastung des rechten Herzens besonders eindeutig hervortritt, standen leider nicht zur Verfügung. Ein Vergleich der Kohlehydratwerte des Herzens mit denen der Skeletmuskulatur war aus äußeren Gründen leider nicht möglich. Vergleichswerte von Gesunden, die nur von Unfallgetöteten oder noch besser von Hingerichteten zu gewinnen wären, fehlen leider. Dabei müßte noch dahingestellt bleiben, inwieweit bei diesen psychische Einflüsse wie Schreck und ähnliches den, wie wir vor allem vom Tierversuch her wissen, sehr labilen Kohlehydratstoffwechsel zu beeinflussen vermögen, so daß es vielleicht überhaupt nicht möglich ist, einwandfreie Normalzahlen zu gewinnen. Mangels einer solchen Vergleichsmöglichkeit sollen als Vergleichsgrundlage die Mittelwerte aller 49 untersuchten Herzen zugrunde gelegt werden, womit nicht etwa behauptet werden soll, daß diese Zahlen den wirklichen Durchschnittswerten von Herzen gesunder Menschen entsprechen.

---

[31] Lasch, a. a. O. — [32] Theuerling, Inaug.-Diss. Breslau 1937.

Tabelle 1. Einzelwerte.

Gruppe Nr.	Lfde. Nr.	Alter	Geschlecht	Diagnose	Herzkammer	GKH g%	Glykogen als Glucose g%	Milchsäure g%	Berechneter KH-Bestand g%	KH-Bestand r. zu l. in %
1	1	71	m.	Ca oesophagi	l.	0,870	0,013	0,147	0,943	
					r.	0,653	0,012	0,154	0,730	77
	2	60	m.	Ca ventriculi	l.	0,790	0,011	0,305	0,942	
					r.	0,633	0,008	0,211	0,768	82
	3	62	m.	Ca ventriculi	l.	0,710	—	0,196	0,805	—
	4	82	w.	Gallenblasenca	l.	0,740	0,059	0,147	0,813	
					r.	0,574	0,029	0,098	0,623	77
	5	55	w.	Ca recti	l.	0,720	0,012	0,118	0,779	
					r.	0,648	0,010	0,113	0,704	91
	6	62	m.	Ca laryngis	l.	0,880	0,069	0,107	0,933	
					r.	0,795	0,063	0,098	0,844	91
	7	50	m.	Bronchialca mit Hirnmetastasen	l.	0,718	0,014	0,205	0,820	
					r.	0,600	0,011	0,147	0,673	82
	8	43	w.	Ca uteri, Dilatation des linken Ventrikels, Lungenödem	l.	0,814	0,014	0,135	0,881	
					r.	0,669	0,010	0,141	0,739	84
	9	62	w.	Ca uteri (verjaucht)	l.	0,783	0,033	0,128	0,847	
					r.	0,642	0,002	0,129	0,706	83
	10	60	w.	Ca colli mit peritonealer Aussaat	l.	0,850	0,018	0,145	0,922	—
	11	32	w.	Ca ovarii mit Peritonitis carcin.	l.	0,845	0,016	0,113	0,901	
					r.	0,760	0,014	0,113	0,816	91
	12	58	w.	Ca mammae mit Metastasen in Leber, Wirbelsäule und Herzbeutel	l.	0,912	0,016	0,164	0,994	
					r.	0,793	0,010	0,145	0,865	87
2	13	25	w.	Schwerste cavernöse Lungentuberkulose	l.	0,587	0,065	0,130	0,652	
					r.	0,565	0,035	0,081	0,606	93
	14	54	m.	Chronische Lungen- und Darmtuberkulose	l.	1,015	0,085	0,124	1,077	
					r.	0,765	0,043	0,166	0,848	78

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Gruppe Nr.	Lfde. Nr.	Alter	Geschlecht	Diagnose	Herzkammer	GKH g%	Glykogen als Glucose g%	Milchsäure g%	Berechneter KH-Bestand g%	KH-Bestand r. zu l. in %
3	15	77	w.	Bronchopneumonie, Herzmuskelschwielen	l.	0,660	0,020	0,142	0,731	
					r.	0,582	0,018	0,123	0,643	88
	16	69	m.	Bronchopneumonie	l.	0,766	0,012	0,161	0,846	
					r.	0,673	0,011	0,161	0,753	89
4	17	43	m.	Cholera nostras, Herzschwäche	l.	0,730	0,009	0,160	0,810	
					r.	0,765	0,006	0,154	0,752	93
	18	11	m.	Sepsis mit multipl. Abszessen in Herz und Nieren	l.	0,778	0,006	0,144	0,850	
					r.	0,801	0,010	0,159	0,881	104
	19	12	w.	Meningitis, Otitis med., Hirnabzeß	l.	0,880	0,008	0,119	0,939	
					r.	0,808	0,006	0,109	0,863	92
	20	16	m.	Diphtheritis mit Kreislaufschwäche	l.	0,910	0,043	0,178	0,999	—
5	21	74	m.	Diabetes mellitus, Fußgangrän links, (Blutzucker 310 mg%)	l.	1,023	0,049	0,256	1,155	
					r.	0,797	0,018	0,219	0,906	79
	22	60	m.	Diabetes mellitus, Coma (Blutzucker 350 mg%)	l.	1,030	0,124	0,162	1,111	
					r.	0,785	0,020	0,154	0,862	78
	23	62	m.	Diabetes mellitus, Gasbrandinfektion	l.	1,190	0,010	0,171	1,275	
					r.	0,822	0,022	0,157	0,900	71
6	24	70	m.	Nephrosklerose	l.	1,250	0,070	0,095	1,297	77
					r.	0,928	0,030	0,098	0,977	
	25	38	w.	Nephrosklerose bei Calcinosis interstit. mit Urämie (sek. N.)	l.	1,062	0,079	0,408	1,266	89
					r.	0,944	0,052	0,261	1,124	
	26	24	m.	Nephrosklerose (sek.)	l.	0,930	0,019	0,189	1,025	90
					r.	0,832	0,012	0,175	0,919	

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Gruppe Nr.	Lfde. Nr.	Alter	Geschlecht	Diagnose	Herzkammer	GKH g %	Glykogen als Glucose g %	Milchsäure g %	Berechneter KH-Bestand g %	KH-Bestand r. zu l. in %
7	27	72	m.	Aortenaneurysma, schwerste allgemeine Atherosklerose	l.	1,175	0,017	0,178	1,264	
					r.	0,960	0,016	0,142	1,031	81
	28	57	m.	Schwere Aortenstenose	l.	1,100	0,175	0,235	1,217	
					r.	0,790	0,084	0,193	0,886	72
	29	48	m.	Aortenstenose	l.	1,210	0,188	0,198	1,309	
					r.	0,835	0,077	0,180	0,925	71
	30	64	w.	Mitral- und Aorteninsuffizienz	l.	0,930	0,132	0,265	1,062	
					r.	0,750	0,082	0,149	0,825	78
	31	51	m.	Aortenlues, Aorten- und Mitralinsuffizienz, Hydrothorax, Ödeme	l.	0,792	0,014	0,178	0,881	
					r.	0,805	0,022	0,185	0,897	102
	32	52	m.	Cor bovinum	l.	1,080	0,058	0,308	1,234	
					r.	0,980	0,057	0,252	1,106	90
	33	30	w.	Arrhythmia perpetua, Herzinsuffizienz	l.	0,876	0,018	0,209	0,981	
					r.	0,740	0,012	0,183	0,831	85
	34	83	w.	Schwere allgemeine Atherosklerose mit Fußgangrän	l.	0,897	0,016	0,154	0,974	
					r.	0,680	0,016	0,152	0,756	78
	35	74	w.	Schwere allgemeine Atherosklerose	l.	0,913	0,011	0,138	0,982	
					r.	0,763	0,007	0,155	0,840	86
8	36	54	w.	Pneumonie des rechten Unterlappens, Kreislaufinsuffizienz	l.	0,802	0,018	0,130	0,867	
					r.	0,810	—	0,136	0,878	101
	37	72	w.	Linksseitiger Pleuraexsudat bei Mammaca	l.	0,943	0,039	0,127	1,006	
					r.	1,090	—	0,170	1,170	117
	38	54	w.	Pleuraempyem	l.	0,862	0,009	0,168	0,946	
					r.	0,907	0,014	0,182	0,998	106

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Gruppe Nr.	Lfde. Nr.	Alter	Geschlecht	Diagnose	Herzkammer	GKH g%	Glykogen als Glucose g%	Milchsäure g%	Berechneter KH-Bestand g%	KH-Bestand r. zu l. in %
9	39	55	m.	Akute gelbe Leberatrophie, Coma hep.	l.	0,901	0,025	0,140	0,971	
					r.	0,870	0,023	0,131	0,935	96
	40	49	m.	Nephritis mit Endocarditis und Urämie	l.	0,855	0,018	0,152	0,931	
					r.	0,735	0,015	0,143	0,806	87
	41	37	m.	Ulcus ventriculi, Verblutung, schwere Anämie	l.	0,918	0,018	0,149	0,993	
					r.	0,830	0,011	0,122	0,891	90
	42	14	m.	Myeloische Leukämie, sept. Verlauf	l.	0,920	0,018	0,166	1,003	
					r.	0,531	0,039	0,174	0,618	62
	43	50	m.	Lymphatische Leukämie	l.	0,885	0,017	0,099	0,934	
					r.	0,615	0,010	0,091	0,665	71
	44	69	w.	Gallenblasenempyem, Tod durch Operationsschock	l.	0,806	0,017	0,105	0,859	
					r.	0,890	0,029	0,160	0,970	113
10	45	13	w.	Ersticken bei Kehlkopfabszeß	l.	1,050	0,050	0,315	1,207	
					r.	0,753	—	0,176	0,841	70
	46	50	m.	Fettembolie nach Fraktur	l.	1,010	0,083	0,270	1,140	
					r.	0,860	0,042	0,225	0,972	85
	47	59	w.	Lungenembolie nach Ovarialkystom-operation	l.	0,950	0,022	0,173	1,036	
					r.	0,754	0,017	0,181	0,844	81
	48	57	m.	Perniziöse Anämie (Hg. 13% Erythroc. 770000!)	l.	1,259	0,429	0,400	1,459	
					r.	0,647	—	0,360	0,827	
					Skelettmuskel	0,864	—	0,454	1,091	57
	49	25	w.	Rückenmarkstumor, Tod durch zunehmende Atemlähmung	l.	1,450	0,372	0,416	1,658	
					r.	0,471	—	0,344	0,643	39

Tabelle 2. Durchschnittswerte.

Gruppe Nr.	Krankheitsgruppe	Zahl der Fälle	Herzkammer	GKH g%	Glykogen als Glucose g%	Milchsäure g%	Berechneter KH-Bestand g%	KH-Bestand r. zu l. in %
1	Carcinome	12 (10)	l.	0,803	0,025	0,159	0,882	
			r.	0,680	0,017	0,135	0,747	85
2	Tuberkulose	2	l.	0,801	0,075	0,127	0,864	
			r.	0,665	0,039	0,123	0,726	84
3	Bronchopneumonie	2	l.	0,713	0,016	0,151	0,788	
			r.	0,627	0,014	0,142	0,698	88
4	Infektiöse und septische Erkrankungen	4	l.	0,824	0,016	0,150	0,899	
			r.	0,761	0,007	0,141	0,831	92
5	Diabetes mellitus	3	l.	1,081	0,061	0,196	1,179	
			r.	0,801	0,020	0,177	0,889	75
6	Nephrosklerose	3	l.	1,081	0,056	0,231	1,196	
			r.	0,918	0,031	0,178	1,007	84
7	Herz- und Gefäßkrankheiten	9	l.	0,997	0,070	0,207	1,100	
			r.	0,811	0,041	0,177	0,899	82
8	Lobäre Pneumonie und Pleuraergüsse (Fall 36, 37, 38 + 31!)	4 (3 + 1)	l.	0,850	0,020	0,151	0,925	
			r.	0,903	0,018	0,168	0,987	107
9	Verschiedene Krankheiten	6	l.	0,881	0,019	0,135	0,948	
			r.	0,745	0,021	0,137	0,813	86
10	Anoxämie: a) akut	3	l.	1,003	0,052	0,253	1,129	
			r.	0,789	0,024	0,194	0,886	78
	b) chronisch	2	l.	1,354	0,400	0,408	1,558	
			r.	0,559	—	0,352	0,735	47
	Gesamtmittelwert	49	l.				1,043	
			r.				0,838	80

Besprechung der Ergebnisse.

1. In den Herzen Carcinomkranker liegt der durchschnittliche berechnete KH-Bestand in beiden Herzhälften deutlich unter dem Gesamtmittelwert. Im einzelnen wird er aber mehrfach nahezu erreicht.

2. Bei den beiden Lungentuberkulösen ist der KH-Gehalt der Herzen so verschieden, daß dem Durchschnittswert eine praktische Bedeutung nicht zukommt. Bei dem chronisch Tuberkulösen entsprechen die Herzkohlehydrate dem Gesamtmittelwert, bei der an einer schweren cavernösen Lungentuberkulose verstorbenen Frau finden sich die niedrigsten überhaupt vorkommenden Werte, der Unterschied zwischen linkem und rechtem Ventrikel ist gering.

3. Die Herzen beider an einer Bronchopneumonie Verstorbenen weisen sowohl im Durchschnitt wie im einzelnen eine erhebliche KH-Verminderung gegenüber dem Gesamtmittelwert auf.

4. In der Gruppe der infektiösen und septischen Erkrankungen fällt vor allem auf, daß das als schweres Herzgift bekannte Diphtherietoxin zu keiner nennenswerten Beeinflussung der Herzkohlehydrate führt. Dieser Befund stimmt mit der Angabe von Lederer und Stolte[33] gut überein. Bei den anderen Fällen ist der berechnete KH-Gehalt im linken Ventrikel zum Teil erheblich herabgesetzt, während er im rechten nur im ersten Falle unternormal ist. Diese Verhältnisse kommen auch im Durchschnittswert gut zum Ausdruck.

5. Beim Diabetes mellitus ist regelmäßig eine Erhöhung der KH-Werte in beiden Herzhälften zu beobachten. Weder die Acidose noch ein sekundärer Infekt haben irgendeinen Einfluß auf diese im Sinne einer Verminderung.

6. Bei der Nephrosklerose besteht im Durchschnitt eine deutliche und gleichmäßige KH-Anreicherung in beiden Herzhälften. Sie tritt bei der Betrachtung der Einzelwerte bei zwei Fällen noch wesentlich klarer hervor. Bei dem dritten Kranken überschreitet auffallenderweise nur der KH-Gehalt der rechten Herzkammer den Gesamtmittelwert.

7. In der Gruppe Herz- und Gefäßkrankheiten sind die verschiedensten Erkrankungen des Kreislaufsystems zusammengefaßt. Der Gruppendurchschnitt weist in beiden Herzkammern gegenüber dem Gesamtmittelwert eine geringe Vermehrung der KH auf. Im einzelnen zeigen in dieser Gruppe die beiden Fälle von reiner Aortenstenose den größten Unterschied im KH-Reichtum zwischen rechts und links zugunsten der linken Herzkammer. Bei Krankheitsfall 31 sind die Verhältnisse durch den gleichzeitig bestehenden Hydrothorax und die dadurch bedingte Mehrbelastung des rechten Ventrikels verwischt. Im übrigen finden sich die niedrigsten KH-Werte dieser Gruppe bei den Fällen mit schwerer allgemeiner Arteriosklerose, bei denen eine ungenügende Ernährung des Herzmuskels anzunehmen ist, und bei den Fällen, die mit einer Herzinsuffizienz einhergingen (31, 33).

8. In dieser Gruppe sind die Krankheiten der Atmungsorgane zusammengefaßt, die mit einer erheblichen Mehrbeanspruchung des rechten Herzens einhergehen. Bei der Berechnung der Durchschnittswerte wurde auch Krankheitsfall 31 der vorhergehenden Gruppe mit berücksichtigt. Regelmäßig ist die rechte Herzkammer KH-reicher als die linke und ihr KH-Depot überschreitet zum Teil beträchtlich den Gesamtmittelwert. Im linken Ventrikel finden sich wieder die niedrigsten KH-Werte bei den Kranken, bei denen klinisch eine Herz- oder Kreislaufinsuffizienz vorlag (31, 36).

9. In dieser Gruppe sind die verschiedensten Krankheiten aufgezählt. Der Durchschnittswert zeigt eine geringe Verminderung der Herzkohlehydrate in beiden Herzhälften. Im einzelnen ist die starke KH-Ver-

[33] Lederer u. Stolte: a. a. O.

armung der rechten Herzkammer im Vergleich zur linken bei den Leukämiekranken zu erwähnen. Hervorzuheben ist ferner, daß eine schwere Blutungsanämie den KH-Besitz des Herzens kaum zu beeinflussen vermag. Der größere KH-Reichtum des rechten Ventrikels bei der an einem Operationsschock verstorbenen Frau ist nicht recht erklärbar. Bemerkenswert ist ferner, daß bei der akuten gelben Leberatrophie der KH-Gehalt des linken Herzens nur unbedeutend beeinflußt wird, während die rechte Herzkammer sogar KH anreichert. Das ist bei der Bedeutung der Leber für den Kohlehydratstoffwechsel besonders auffallend.

10. Bei der akuten Anoxämie liegen die Durchschnittswerte über dem Gesamtmittelwert. Die chronische Anoxämie führt zu dem größten überhaupt beobachteten Anstieg der KH-Werte im linken Ventrikel und zu einer beträchtlichen Vergrößerung der KH-Differenz zwischen der rechten und linken Herzhälfte. Auch finden sich bei ihr die höchsten bei diesen Untersuchungen gefundenen Glykogenwerte.

Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

Die Beurteilung der obigen Untersuchungsergebnisse an menschlichen Leichenherzen ist dadurch erschwert, daß normale Durchschnittswerte infolge der fehlenden Gelegenheit, Herzen organgesunder Menschen (Unfallgetötete, Hingerichtete) zu untersuchen, nicht vorhanden sind. Hierbei mag es dahingestellt bleiben, ob nicht auch solche Herzen infolge der mit einem gewaltsamen Tode verbundenen psychischen Einwirkungen und der dadurch möglicherweise ausgelösten Beeinflussung des Kohlehydratstoffwechsels unphysiologische Kohlehydratwerte aufwiesen. Es war außerdem nicht möglich, das Verhalten der Skeletmuskulatur vergleichsweise zu prüfen. Aus den Untersuchungsresultaten ergeben sich gewisse Gesetzmäßigkeiten. Andere Befunde sind wieder schwer auf einen gemeinsamen Nenner zu bringen. Fassen wir die gesicherten, gesetzmäßigen Ergebnisse zusammen, so ergeben sich folgende Feststellungen: Die linke Herzkammer ist mit wenigen nicht zu erklärenden Ausnahmen kohlehydratreicher als die rechte. Nur dort, wo der rechte Ventrikel eine erhebliche Mehrarbeit zu leisten hat, weist er einen größeren Kohlehydratgehalt auf als der linke. Die Mehrbelastung der linken Herzkammer dagegen äußert sich nur bei den Aortenstenosen in einer eindeutigen einseitigen Kohlehydratanreicherung. Die Glykogen- und Milchsäurewerte zeigen bei den einzelnen Fällen, wohl infolge des verschieden intensiven postmortalen Kohlehydratabbaues, so erhebliche Schwankungen, daß eine praktische Verwertung nicht möglich ist. Am kohlehydrat- und auch am glykogenreichsten sind die Herzen der beiden Kranken, bei denen lange Zeit eine ungenügende Sauerstoffversorgung bestand. Auch bei toxischen und mit einer schweren Kachexie einhergehenden Erkrankungen zeigt das Herz sichtlich das Bestreben, seinen Kohlehydratvorrat zu bewahren. Bei der

Herzschwäche und den Gefäßerkrankungen, bei denen eine mangelhafte Ernährung des Herzmuskels anzunehmen ist, sinkt der Kohlehydratbestand des Herzens. Er ist erhöht beim Diabetes mellitus und wird bei der akuten gelben Leberatrophie nur unbedeutend beeinflußt. Aus allen diesen Befunden ist mit Sicherheit zu entnehmen, daß der Herzmuskel unter allen Umständen bestrebt ist, auch unter den ungünstigsten Verhältnissen seinen Kohlehydratbesitz zäh zu bewahren und ihn möglichst noch zu erhöhen, vor allem dann, wenn er erhöhten Anforderungen gerecht werden muß. Dieses Verhalten beweist, daß die Kohlehydrate im Stoffwechselgeschehen des Herzens zumindest eine besonders wichtige, wenn nicht ausschlaggebende Rolle spielen.

Anmerkung: Eine Korrektur der Literaturangaben war leider nicht möglich, da die Arbeit in einem Feldlazarett niedergeschrieben wurde. Etwaige Fehler in den Angaben bitte ich damit zu entschuldigen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Über die Messung analgetisch-sedativer Wirkungen am Tier und die Übertragbarkeit der Messungsresultate auf den Menschen.

Von

W. Straub und **E. Triendl**.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 1. Januar 1940.)

Die in so vielfachen Variationen verwendeten analgetisch-sedativen Mischpräparate der Therapie, meistens bestehend aus Schlafmitteln und Antipyreticis, werden mit verschiedenen Methoden im Tierexperiment geprüft. Wenn man davon absieht, daß die am Menschen erstrebten psychischen Wirkungen am Tier kaum gemessen werden können, höchstens unter Heranziehung mühsamer Dressurversuche, bleibt nichts anderes übrig, als periphere Reaktionen auf sensible Dauerreize oder Unbequemlichkeiten mit den Mischpräparaten oder deren Bestandteilen messend zu bekämpfen. Die mit den verschiedenen Methoden bisher gefundenen Werte mögen für grundsätzliche und qualitative Folgerungen brauchbar sein, aber ihre unmittelbare, ziffernmäßige Übertragbarkeit von Tiergewicht auf Menschengewicht, von gefundenen Tierdosen auf berechnete Menschendosen ist sehr problematisch. Es sei hier nur in der folgenden Tabelle der Fall der Kombination Veronal und Pyramidon, das bekannte Veramon, herausgegriffen.

Im letzten Stab der Tabelle haben wir errechnet, wie groß die Menschendosis sein müßte, wenn die am Tier gefundenen Werte unmittelbar auf den Menschen übertragen würden, wenn also hier der Sprung von der Maus auf den Menschen zulässig wäre. Man kommt dabei zu geradezu grotesken Dosen, die am Menschen sicher schon pessimal wirken würden, denn die Menschendosis ist empirisch für alle diese Stoffe als wesentlich kleiner erprobt.

Wir haben uns die Aufgabe gestellt, für diesen Zweck eine Methode heranzuziehen, bei der das Tier auf kleinste Dosen reagiert, so klein, daß möglichst die unmittelbare Umrechnung der Dosen von Tiergewicht auf Menschengewicht gestattet ist, also ungefähr die empirisch erprobten Menschendosen erreicht werden.

Für die Mischpräparate scheint uns eine derartige Messung wünschenswert zu sein, da ihre Zusammensetzung gelegentlich aus äußeren Gründen geändert werden muß. Es kann sein, daß der eine oder andere Bestandteil einer Verknappung unterliegt, daß er ganz aus dem freien Handel verschwindet, daß gesetzgeberische Maßnahmen das Mischpräparat unter Rezeptzwang stellen und die Freiverkäuflichkeit und damit Wirtschaftlichkeit aufheben (Barbitursäuren).

Tabelle.

Autor	Tierart	Art der Einverleibung	Angewandte Dosen	Wirkung	Umgerechnet auf 60 kg Mensch g
			A. Veronal		
F. Hildebrandt (1)	Meerschweinchen	per os	0,02 mg/g	In den meisten Fällen Wirkung	1,2
„	„	„ „	0,05–0,1 mg/g	Deutlich wirksam	3,0–6,0
			B. Pyramidon		
F. Haffner (2)	Mäuse	subcutan	0,15 mg/g	Unvollständige Analgesie	9,0
„	„	„	0,20 „	Annähernd vollständige Analgesie	12,0
E. Hesse (3)	„	per os	0,20 „	Keine Analgesie	12,0
„	„	„ „	0,30 „	Bei 6 von 10 Tieren Analgesie	18,0
„	„	„ „	0,40 „	Bei 2 Tieren von 3 Tieren Analgesie	24,0
E. Hesse (4)	Meerschweinchen	„ „	0,6 „	Bei 7 Tieren keine Analgesie	36,0
			C. Veramon		
E. Hesse (3)	Mäuse	„ „	0,6 mg Tablette/g	Bei 6 Tieren keine Analgesie	36,0
„	„	„ „	0,8 „ „	„ 6 „ „ „	48,0
E. Hesse (4)	Meerschweinchen	„ „	0,4 „ „	Von 4 Tieren bei 1 Tier Analgesie	24,0
„	„	„ „	0,6 „ „	Von 4 Tieren bei 2 Tieren Analgesie	36,0
„	„	„ „	0,8 „ „	Bei 2 Tieren Analgesie	48,0
F. Hildebrandt (1)	„	„ „	0,2 „ „	Erste Anzeichen von Wirkung	12,0
„	„	„ „	0,4 „ „	In den meisten Fällen Wirkung	24.0

Als Beispiel haben wir den Fall Veramon und seine Bestandteile gewählt, als Methode die äußerst schonende von A. W. Forst (5), bei der die Maus spontan und frei beweglich auf einem großen Kippteller herumläuft. Der Kippteller ist eine runde Scheibe von 24 cm Durchmesser, die zentral auf einer Spitze gelagert ist. Die Laufbewegungen des Tieres bringen den Teller um einige Winkelgrade aus der Horizontalen, wodurch automatisch Kontakte betätigt werden, die auf ein Zählwerk (Arbeitssammler) übertragen werden. Auf diese Weise wird die Motilität des normalen oder beeinflußten Tieres graphisch registriert. Die anderen Methoden arbeiten mit oft recht eingreifenden oder schwer zu deutenden Zwangszuständen der Versuchstiere.

Einen länger dauernden Reizzustand setzten wir durch Anbringung einer elastischen Klemme am Schwanz der Mäuse. Der Unterschied unseres Vorgehens gegenüber der früher schon von F. Haffner (2) benutzten Abklemmung des Mäuseschwanzes besteht darin, daß bei Haffners Versuchen die Klemme jeweils nur kurze Zeit liegen blieb, während sie bei uns für die ganze Dauer eines Versuchs angebracht war. Wir haben uns deshalb bemüht, den Klemmwert, mit dem der Schwanz belastet wurde, konstant zu halten durch einen gemessenen Federdruck von 200 g. Das Tier wird durch einen derartigen, dauernd liegenden Druck keineswegs geschädigt, wenn man darauf achtet, daß die dorsal und

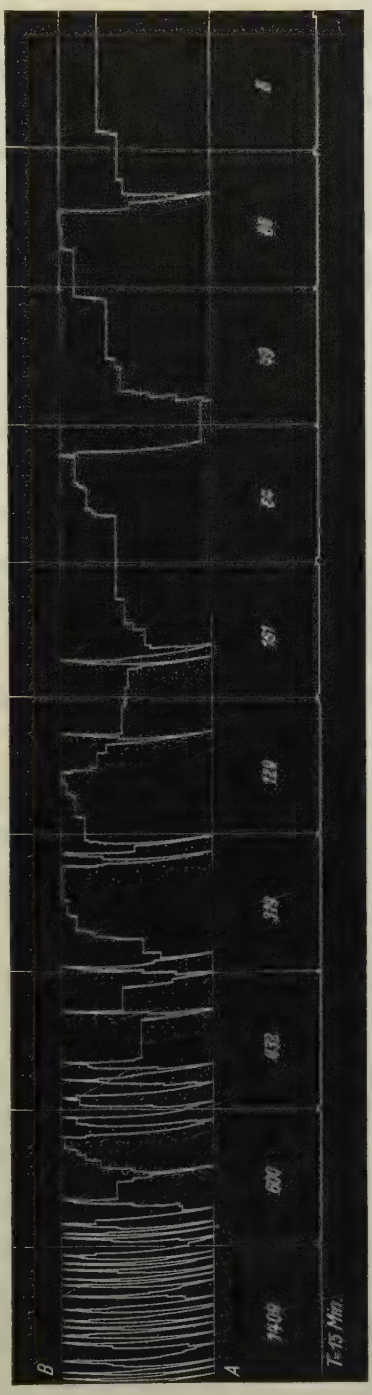


Abb. 1. Unmittelbare Registrierung der Laufbewegungen einer normalen Maus ohne Schwanzklemme während 10×15 Min. Die Zahlen bedeuten die ausgezählten Laufbewegungen in einer Viertelstunde.

ventral verlaufenden Schwanzvenen bei der Ansetzung der Klammer nicht mitgetroffen werden.

Durch die Spontanbewegungen der Maus entstehen direkte Registrierungen, wie sie in Abb. 1 gegeben sind. In der Abb. 1 bedeutet die Strecke zwischen A und B jeweils 50 Ausschläge des Arbeitssammlers.

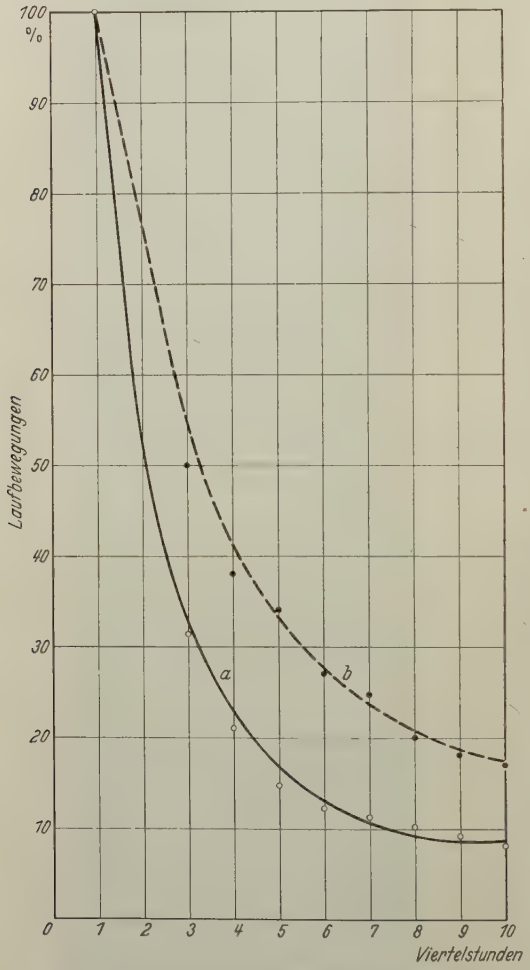


Abb. 2. Abgeleitete Motilitätskurven. a) Tiere ohne Schwanzklemme; b) Tiere mit Schwanzklemme.

Da es sich bei unseren Versuchen um die Messung einer Spontanmotilität handelt, sind die Effekte nicht für jedes Tier die gleichen, und es mußte auf statistischem Wege jeweils der Mittelwert aus vielen Einzelversuchen festgestellt werden. Wir verwendeten für jede so abgeleitete Kurve immer 100 bis 120 Tiere. Der Mittelwert dieser Versuche wurde aus einer Beobachtungsperiode von jeweils 15 Minuten während der immer $2^1/_2$ Stunden dauernden totalen Versuchszeit berechnet. Daraus ergab sich dann die Möglichkeit, für die verschiedenen Dosen des zu prüfenden Stoffes vergleichbare Werte zu schaffen. Diese abgeleiteten Mittelwerte wurden dann in besonderer Weise zur graphischen Darstellung gebracht (Abb. 2).

Wenn man die Versuchstiere, normale oder mit Schwanzklemme gereizte, auf den Kippteller bringt, so zeigen sie zunächst ein Maximum von Motilität. Sie beruhigen sich dann zunehmend und haben für unseren Fall nach $2^1/_2$ Stunden ihr beobachtetes Minimum. Wir haben nun für jedes Tier das registrierte Maximum der ersten Viertelstunde mit 100 angesetzt, und die gemessenen Motilitätswerte der folgenden Viertelstunden als Prozente dieser Maximalwirkung

aufgetragen. Es entsteht so die abgeleitete Kurve der Motilität für $2^1/_2$ Stunden, die in Abb. 2 dargestellt ist. Macht man den Versuch mit Tieren, die die dauernd liegende Schwanzklemme tragen, so erhält man eine Kurve (Abb. 2b), die während der $2^1/_2$stündigen Beobachtungszeit der Kurve der normalen Tiere (Abb. 2a) nahezu parallel läuft, natürlich mit größeren Motilitätswerten der koordinierten Zeiten, d. h. sie verläuft oberhalb der normalen Kurve. Für die Bewertung der Methode ist daraus zu entnehmen, daß für die Beobachtungszeit von $2^1/_2$ Stunden der Dauerreiz der Schwanzklemme auch dauernd wirksam ist, also eine Gewöhnung, die durch eine merkliche Konvergenz der beiden Kurven sich ausdrücken müßte, nicht stattfindet. Die Kurve der analgetisch-sedativ beeinflußten Tiere muß dementsprechend tiefer verlaufen, als die Reizkurve.

Für die Prüfung der zu untersuchenden Substanz wurde diese in Lösung in den Magen der Versuchstiere gebracht, nachdem vorher die erste Viertelstunde exakt registriert wurde. Das zu prüfende Mittel wurde in sämtlichen Versuchen in einem Volumen von 0,01 ccm/g Maus mit einer Mikrospritze injiziert (6). Nach der Injektion erfolgte eine Registrierpause von einer Viertelstunde, während der die Resorption zu erwarten war und das Tier den Schreck der Magensondierung überwunden hatte. Von da ab wurde viertelstundenweise weiter registriert.

Veronal.

Für das Veronal (in Form von Medinal) ergaben sich die abgeleiteten Kurven der Abb. 3, d. h. die Tiere verzeichneten Kurven, die sich der der Normaltiere, nicht Schwanzklemme tragenden und nicht mit Veronal behandelten, merklich näherten. So konnte die Wirksamkeit der Dosen ermittelt werden, insbesondere der an der untersten Grenze liegenden. Sie ist in Abb. 3c mitgeteilt, die von einer Einverleibung von 1,9 γ/g Maus gewonnen wurde. Noch kleinere Dosen (0,9 γ/g Veronal, Abb. 3b) geben unklare Ausschläge, so daß man also den Wert von 1,9 γ/g als unterste Wirksamkeit des Veronals in Rechnung setzen kann. Wenn man die Rechnung so durchführt, daß man vom Körpergewicht der Maus auf das Körpergewicht des Menschen, dieses zu etwa 60 kg gerechnet, schließt, so ergibt sich eine Menschendosis von 0,114 g Veronal. Nach den empirischen Feststellungen am Menschen ist diese Dosis von einer Größenordnung, die man auch für den Menschen als unterste wirksame bezeichnen kann. Unsere Versuchsanordnung ist also tatsächlich geeignet, quantitative Schlüsse von Tierwirksamkeit auf Menschenwirksamkeit zu ziehen. In Abb. 3d und 3e sind auch die Wirkungen größerer Dosen von Veronal mitgeteilt, und zwar von 14,9 und 46,7 γ/g. Die Dosis von 14,9 γ/g gibt eine einfache analgetisch-sedative Wirkungsvertiefung. Sie entspricht

einer Menschendosis von 0,9 g/60 kg. Auf Menschenverhältnisse umgerechnet ist der Wert von 46,7 γ/g Maus aber schon pessimal. Denn die empirisch gefundene Menschendosis hat als maximale Einzelgabe 0,75 g vorgesehen. Auch die Mäuse der Kurve 3e zeigten schon toxische Erscheinungen, erholten sich aber stets wieder.

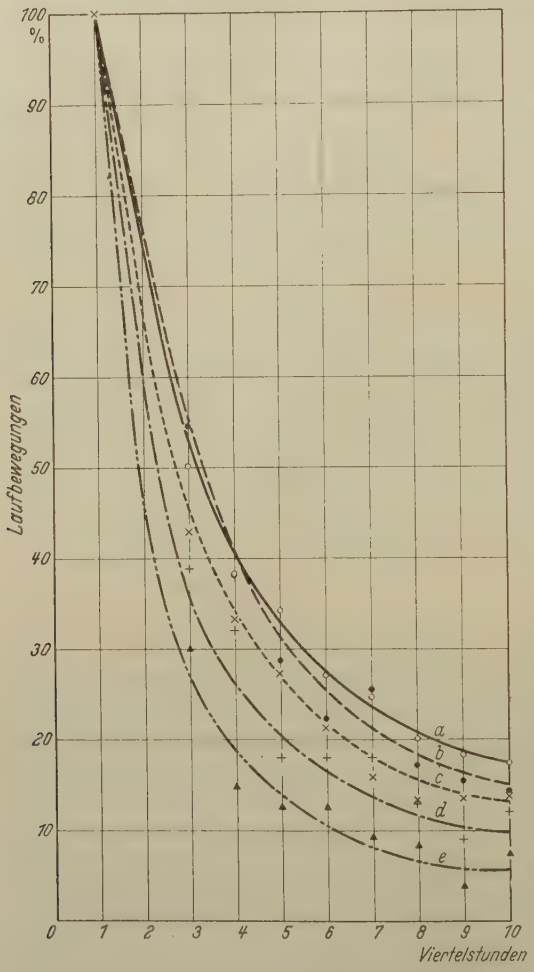


Abb. 3.
Wirkung kleinster und größerer Dosen von Veronal.
a) Normale Tiere mit Schwanzklemme;
b) Wirkung von 0,9 γ/g Veronal:
c) „ „ 1,9 γ/g „
d) „ „ 14,9 γ/g „
e) „ „ 46,7 γ/g „

Pyramidon.

Da aus der Literatur die Dosen von 200—400 γ Pyramidon pro g Maus [F. Haffner (2), E. Hesse (3)] als nur teilweise wirksam bezeichnet sind, haben wir zunächst 300 γ/g an unseren Schwanzklemme tragenden Tieren erprobt. Es ergab sich das merkwürdige Bild der Abb. 4d, d. h. eine ungeheuer starke Erregung, die sich gewissermaßen auf die schon bestehende Dauererregung durch die Schwanzklemme aufsetzte, und sehr lange bestehen blieb. Erst nach neunmal 15 Minuten wurde mit dieser Dosis eine Annäherung an den Normalwert wieder erreicht. Die Umrechnung von 300 γ/g Maus auf Menschenverhältnisse würde 18 g Pyramidon/60 kg entsprechen, also ein sinnlos hoher Wert, wenn man bedenkt, daß die maximale Einzeldosis für den Menschen 0,5 g ist. Die im Pyramidon zweifellos enthaltene analgetisch-sedative Wirkung kommt bei unserer Methode aber erst bei kleineren Dosen zur Geltung. Die Abb. 4c zeigt den Effekt von 75 γ/g Maus, die also schon eine wirklich analgetisch-sedative Dosis darstellen. Für den Menschen würde das heißen

4,5 g, erfahrungsgemäß auch noch eine Überdosierung. Die kleinste, noch sicher wirksame Dosis von Pyramidon liegt nach unserer Methode bei 9,4 γ/g Maus, Abb. 4b, während 4,7 γ/g etwa die unterste Grenze der Nachweisbarkeit darstellen dürfte. Auf den Menschen umgerechnet bedeuten diese Werte 0,56 bzw. 0,28 g/60 kg. D. h. man kommt auch für Pyramidon mit unserer Methode zu den am Menschen erprobten Dosengrößen.

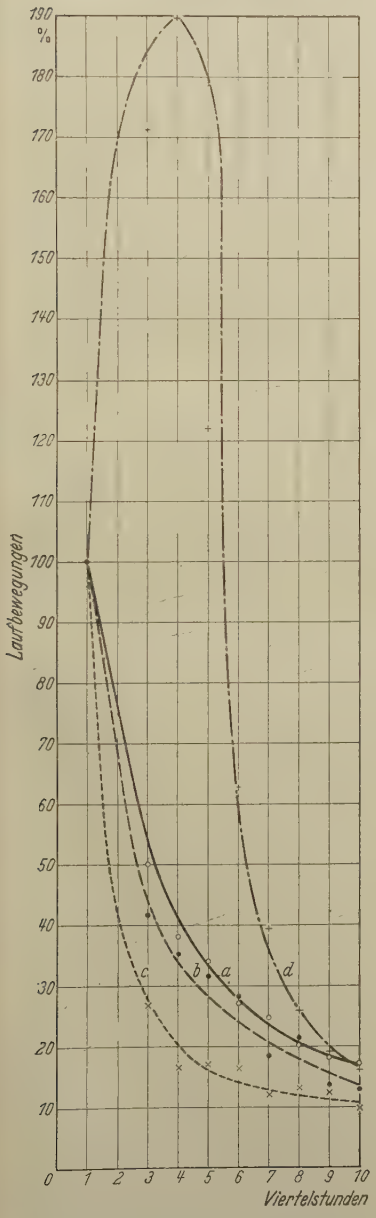


Abb. 4. Wirkung von Pyramidon.
a) Normale Mäuse m. Schwanzklemme;
b) Wirkung von 9,4 γ/g Pyramidon;
c) „ „ 75 γ/g „
d) Übermaximale Dosis von 300 γ/g Pyramidon = 18 g/60 kg Mensch.

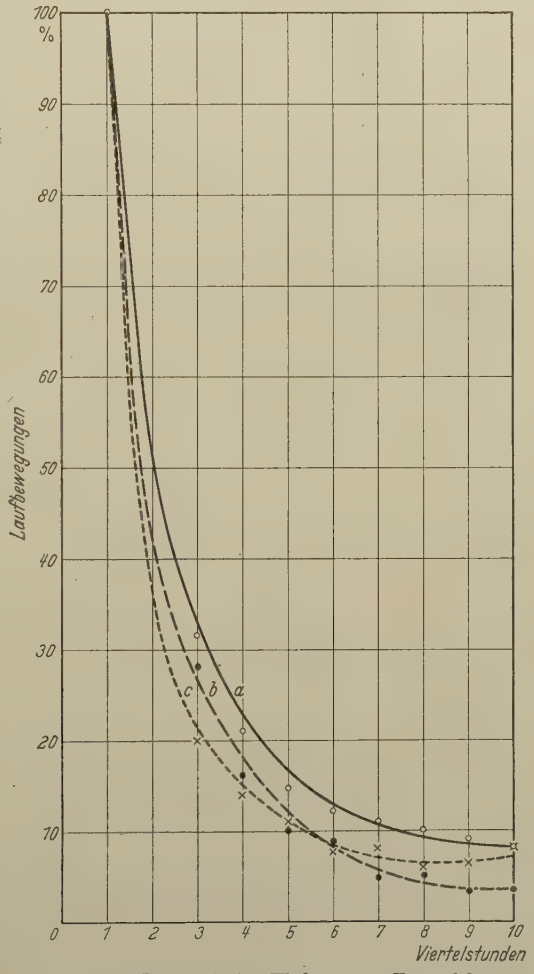


Abb. 5. Rein sedative Wirkung von Veronal bzw. Pyramidon (unterste Grenzdosen). a) Normale Mäuse ohne Schwanzklemme, b) Wirkung von 0,05 γ/g Veronal, c) Wirkung von 0,3 γ/g Pyramidon.

Daß der Dauerreiz durch die Schwanzklemme etwas Spezifisches darstellt, ergibt sich aus dem Vergleich mit den zu rein sedativer Wirkung am normalen, nicht Schwanzklemme tragenden Tier benötigten Dosen von Veronal und Pyramidon. Wir haben gefunden, daß die Motilität solcher normaler Tiere schon von 0,05 γ/g Veronal (Abb. 5b) bzw. 0,3 γ/g Pyramidon (Abb. 5c) deutlich herabgesetzt wurde (Abb. 5), während durch Schmerz in Dauerreizzustand gehaltene Tiere zu ihrer Beruhigung das 40fache an Veronal und das 30fache an Pyramidon benötigen.

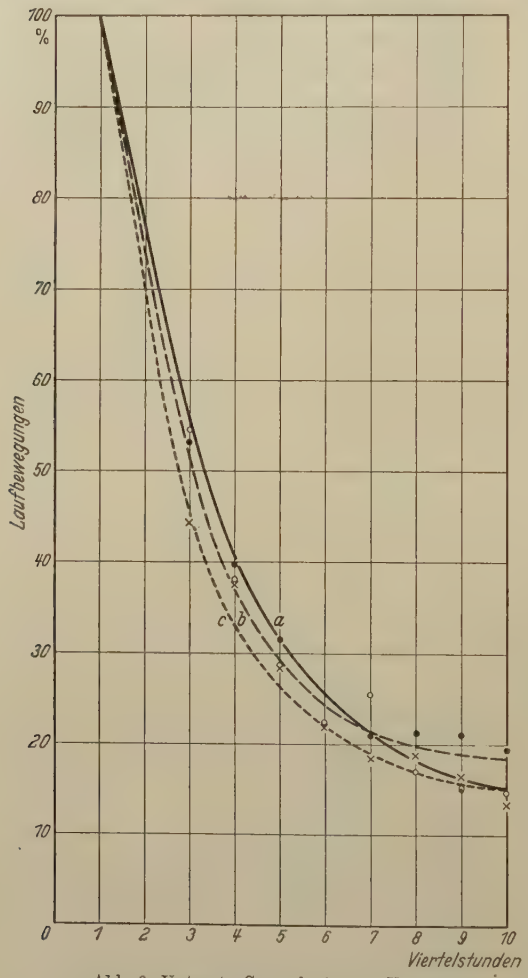


Abb. 6. Unterste Grenzdosis von Veramon.
a) Wirkung der untersten Grenzdosis von 0,9 γ/g Veronal;
b) Wirkung der untersten Grenzdosis von 4,7 γ/g Pyramidon;
c) Wirkung von 3,3 γ/g Veramon (Mischung im Veramonverhältnis von 0,9 γ/g Veronal + 2,3 γ/g Pyramidon).

Veramon.

Das Veramon besteht aus 2 Mol Pyramidon und 1 Mol Veronal. Es wird von ihm angegeben, daß es gerade in diesem Mischungsverhältnis bestimmte Qualitäten hätte. Ob es auch bestimmte Quantitäten der Wirkung hat, also vielleicht eine Potenzierung eintreten könnte, wurde mit unserer Methode gemessen. Wir haben uns deshalb Lösungen von Veronal und Pyramidon im Veramonverhältnis hergestellt, und ihre Wirkung mit der der einzelnen Komponenten verglichen. Die Dosis von 3,3 γ/g Veramon, Abb. 6c, zusammengesetzt aus der unwirksamen Dosis von 2,3 γ/g Pyramidon, Abb. 6b (siehe oben), und der alleruntersten Grenzdosis von 0,9 γ/g Veronal, Abb. 6a, kann als Grenzwert bezeichnet werden (Abb. 6). Aus dieser Kurve ist eine deutlich sedativ-analgetische Wirkung gegenüber der der nahezu

unwirksamen Einzelbestanteile zu ersehen. Um aber eine Potenzierung daraus abzuleiten, scheint der Effekt doch zu klein.

In einem zweiten Versuch wurde mit einem Gemisch, das der vierfach größeren Dosis von Veramon entspricht (Abb. 7c), also deutlich wirksamen

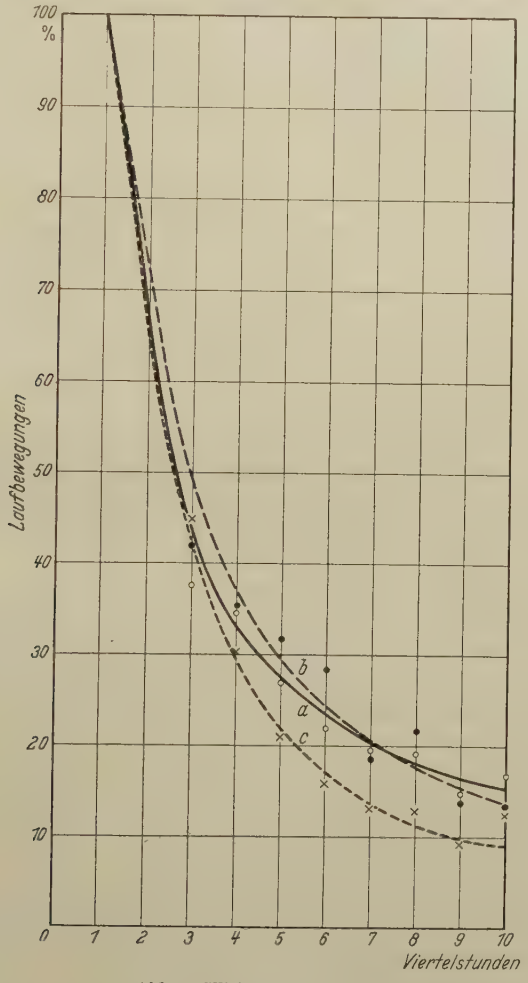


Abb. 7. Wirkung von Veramon.

a) Wirkung von 3,7 γ/g Veronal;
b) „ „ 9,4 γ/g Pyramidon;
c) „ „ 13,1 γ/g Veramon (Mischung im Veramonverhältnis von 3,7 γ/g Veronal + 9,4 γ/g Pyramidon).

Mengen der einzelnen Bestandteile von Pyramidon und Veronal, gearbeitet (3,7 γ/g Veronal + 9,4 γ/g Pyramidon, Abb. 7a und 7b). Auch in diesem Falle dürfte es sich lediglich um eine Steigerung der Wirkung, die einer Addition, aber nicht einer Potenzierung entspricht, handeln. Soweit

scheint der behauptete therapeutische Vorzug des Veramons, der nicht bestritten werden soll, auf anderem Gebiete zu liegen.

Zusammenfassung.

1. Für die Übertragung der im Tierversuch gefundenen Dosen von analgetisch-sedativen Wirkungen sind weit empfindlichere Methoden notwendig, als die bisher verwendeten.

2. Die Methode von A. W. Forst (5), kombiniert mit einem Dauerreiz an der Schwanzwurzel der Versuchstiere, entspricht diesen Anforderungen.

3. Als analgetisch-sedative Grenzdosen für Veronal und Pyramidon wurden gefunden: 1,9 γ/g Veronal und 9,4 γ/g Pyramidon. Die ziffernmäßige Umrechnung auf einen Menschen von 60 kg entspricht 0,114 g Veronal bzw. 0,56 g Pyramidon.

4. Diese Dosis liegt für Veronal 40mal, für Pyramidon 30mal höher als die zur Erzielung einer rein sedativen Wirkung am normalen, nicht durch Schmerz gereizten Tier benötigte Menge.

5. Für das Veramon wurde als Grenzdosis 3,3 γ/g Maus gefunden.

6. Im Veramon liegt nach unserer Methode keine Potenzierung, sondern eine Addition der Wirksamkeit der einzelnen Komponenten vor.

Literatur.

1) Naunyn-Schmiedebergs Arch. **174**, 405 (1934): F. Hildebrandt (Schmerzreiz durch lokale Hitze). — 2) Dtsche. Mediz. Wschr. Nr. 18, 731 (1929); F. Haffner (Schwanzklemme). — 3) Naunyn-Schmiedebergs Arch. **158**, 233 (1930); E. Hesse (Verstärkte Schwanzklemme). — 4) Ebenda **158**, 247 (1930); E. Hesse (Entzündung durch Krotonöl). — 5) Verhandl. d. Dtsch. Pharm. Ges., 14. Tagung 1938. — 6) Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 456 (1937).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Sofia.
(Direktor: Prof. Dr. D. P. Orahovats.)

Die Bedeutung der Blutgefäße und des Herzens für die Regulierung des Blutdruckes.

VI. Mitteilung: Die Wirkung gleichzeitiger und aufeinanderfolgender Einverleibung zweier verschiedener Stoffe. Veränderungen im Blutdruck und im Zustand der Blutgefäße.

Von

T. Gotsev.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Mai 1940.)

Es wird allgemein angenommen, daß das Histamin und das Azetylcholin die Blutgefäße großer Gefäßgebiete erweitern und das Adrenalin, das Veritol und das Ephedrin dieselben zusammenziehen. Als Ursache für die Veränderung im Blutdruckniveau betrachtet man gewöhnlich die im Zustand der Blutgefäße eintretenden Veränderungen. So erklärt man sich z. B. das Fallen des Blutdrucks, das nach Anwendung von Histamin und Azetylcholin regelmäßig beobachtet wird, durch Erweiterung der Blutgefäße, und die Blutdrucksteigerung infolge des Adrenalins, des Veritols und des Ephedrins hält man für bedingt von der Erhöhung des Widerstandes im Blutkreislaufsystem, die als Folge von Zusammenziehung der Blutgefäße großer Gefäßgebiete eintritt. Dies finden wir in jedem Leitfaden und in allen Lehrbüchern, und es wird als vollkommen feststehend betrachtet [Meyer-Gottlieb (1)].

In den Jahren 1933 und 1935 stellten Orahovats und Gotsev (2, 3) durch Versuche an Tieren fest, daß die Wirkung des Adrenalins auf die Blutgefäße vor allem von der Stelle, an welcher die Einspritzung erfolgt, abhängt. Die intravenöse Verabfolgung von Adrenalin verursacht in weitaus nicht allen Fällen Zusammenziehung der Gefäße, wie dies gewöhnlich angenommen wird. In einem großen Prozentsatz der Fälle tritt Erweiterung ein, und nur in wenigen Fällen wird Zusammenziehung der Blutgefäße beobachtet.

Durch die in den vorhergehenden Mitteilungen veröffentlichten Versuche vermochten wir festzustellen, daß auch die Wirkung einiger anderer Stoffe auf die Blutgefäße nicht diejenige ist, die durchwegs als völlig feststehend angenommen wird. Bei einigen Stoffen, von denen man weiß, daß sie die Gefäße zusammenziehen, wurde gefunden, daß sie Erweiterung hervorrufen, und solche, von denen wir wissen, daß sie die

Gefäße erweitern, ergaben Zusammenziehung. Es wurde festgestellt, daß bei intravenöser Verabfolgung von Histamin und Azetylcholin nicht die vielfach beschriebene Erweiterung der Blutgefäße eintrat, sondern gerade das Entgegengesetzte — in allen Fällen erfolgte Zusammenziehung der Gefäße, trotz dem Absinken des Blutdrucks. Bezüglich des Veritols und des Ephedrins wurde ermittelt, daß sie nicht Zusammenziehung, sondern Erweiterung der Blutgefäße großer Gefäßgebiete zeitigen; unabhängig hiervon setzt Steigerung des Blutdrucks ein. Die Veränderungen in den Blutgefäßen treten 1 oder 2 Sekunden nach Beginn der Veränderung im Blutdruckniveau ein, folglich können sie nur die Folge, und nicht die Ursache für die Veränderung im Blutdruck sein. Es wurde festgestellt, daß ein ursächliches Abhängigkeitsverhältnis zwischen den Veränderungen in den Blutgefäßen einerseits und denjenigen im Niveau des Blutdrucks andererseits in durchaus nicht allen Fällen zu finden ist. Gewöhnlich erfolgen und verlaufen die Veränderungen im Blutdruckniveau unabhängig davon, welche Veränderungen im Zustand der Blutgefäße (Zusammenziehung oder Erweiterung) eintreten.

Angesichts dieser neuen Tatsachen erhebt sich die Frage, was für Veränderungen im Zustande der Blutgefäße großer Gefäßgebiete eintreten würden, wenn man gleichzeitig zwei Stoffe zur Anwendung brächte, die entgegengesetzte Wirkung auf den Blutdruck haben, d. h. solche Stoffe, von denen der eine den Blutdruck erhöht und der andere ihn herabsetzt. Es wäre von Interesse festzustellen, mit welchen Veränderungen die Blutgefäße dann reagieren würden, wenn die Wirkung der beiden Stoffe auf den Blutdruck sich gegenseitig verringerte oder aufhöbe. Wenn es möglich wäre zu erreichen, daß die Wirkung der beiden Stoffe sich gegenseitig vernichtete, würden dann irgendwelche Veränderungen in den Blutgefäßen eintreten, oder würde sich die Wirkung auf die Gefäße ebenfalls gegenseitig herabsetzen und aufheben? So haben z. B. das Adrenalin und das Azetylcholin zwei entgegengesetzte Wirkungen auf den Blutdruck — die eine erhöht ihn und die andere setzt ihn herab. Welche Veränderungen in den Blutgefäßen würden erfolgen, wenn man zwei solche Dosen auswählen und einspritzen würde, von denen die eine den Blutdruck um soviele Millimeter erhöhen, wie die andere ihn herabsetzen würde? Wenn der Zustand der Blutgefäße der Hauptfaktor ist, der die Veränderungen im Niveau des Blutdrucks bedingt, so müßte man erwarten, daß auch entsprechende Verringerung oder Vernichtung der Wirkung beider Stoffe auf die Blutgefäße eintreten und in den letzteren entweder eine unbedeutende oder überhaupt keine Veränderung erfolgen würde.

Der Zweck vorliegender Arbeit ist eben die Feststellung, welche Veränderungen in den Blutgefäßen großer Gefäßgebiete und im Blutdruck bei gleichzeitiger Einspritzung zweier Stoffe mit entgegengesetzter Wirkung auf das Blutdruckniveau eintreten, sowie auch die Ermittlung der Veränderungen, die im Zustand der Blutgefäße bei Zuführung von zwei

Stoffen in eine der Venen ein und desselben Tieres, und zwar nacheinander mit einem gewissen Zeitabstand verabfolgt, erfolgen; hierdurch soll erforscht werden, welches ursächliche Abhängigkeitsverhältnis zwischen dem Zustand der Blutgefäße und dem Niveau des Blutdrucks besteht.

Die Versuche wurden an Hunden beiderlei Geschlechts und mittleren Alters vorgenommen. Die Technik ist dieselbe wie die bei den Versuchen unserer früheren Arbeiten angewandte. Die Lösungen der verschiedenen Stoffe wurden venös eingespritzt und immer frisch aus soeben geöffneten Ampullen hergestellt. Die Dosierung wurde mit fein graduierten Spitzen ausgeführt. Man machte die Lösungen zweier verschiedener Stoffe nach gründlicher Mischung der beiden Lösungen. Bei den Versuchen, bei welchen ein und demselben Tier nacheinander zwei Stoffe eingespritzt wurden, wurde der zweite Stoff verabfolgt, nachdem die Wirkung des ersten gänzlich vergangen war. Alle Versuche wurden an ganzen Tieren vorgenommen.

Ergebnisse.

1. Gleichzeitiges Einspritzen zweier verschiedener Stoffe.

A. Adrenalin + Histamin.

Zunächst muß hervorgehoben werden, daß bei dem gleichzeitigen Verabfolgen von zwei verschiedenen Stoffen schwer die entsprechenden Dosen dieser beiden Stoffe zu finden sind, deren Wirkungen auf den Blutdruck sich gegenseitig aufheben, so daß der letztere unverändert auf demselben Niveau bleibt. Nur bei vielfachem Wiederholen der Versuche an mehreren Tieren kann man dies erzielen. Am häufigsten tritt Zweiphasenveränderung im Niveau des Blutdrucks ein, ausgedrückt in vorübergehendem Absinken, gefolgt von sekundärer Steigerung, d. h. zuerst zeigt sich die Wirkung des Histamins und danach diejenige des Adrenalins, worauf der Blutdruck allmählich sinkt und sein Ausgangsniveau erreicht. Gewöhnlich sind die beiden Veränderungen schwächer ausgedrückt als bei gesonderter Verabfolgung je eines der beiden Stoffe. So verursacht z. B. die Einspritzung von 0,1 mg Histamin und 0,2 mg Adrenalin schwächere Blutdrucksteigerung als die Einspritzung von nur 0,2 mg Adrenalin. Nur in seltenen Fällen zeigt sich die Wirkung des Adrenalins vor der des Histamins. Erhöhung, gefolgt von Absinken des Blutdrucks, beobachtet man nur ausnahmsweise. Wenn die Menge des Adrenalins entsprechend größer ist, so erfolgt nur Erhöhung des Blutdrucks, mit anderen Worten: die Wirkung des Histamins geht verloren. Wenn wiederum die Menge des Histamins größer ist, so tritt nur Senkung ohne Erhöhung ein, d. h. die Wirkung des Adrenalins geht verloren.

Bei gleichzeitiger venöser Verabfolgung von Adrenalin und Histamin ergibt sich in allen Fällen Zusammenziehung der Milz, Zusammenziehung der Blutgefäße der Nieren und Erweiterung der Blutgefäße des Dünn-

darms und der Extremitäten. Diese Veränderungen im Zustand der Blutgefäße verlaufen unabhängig davon, was im Niveau des Blutdrucks vor sich geht — ob dieses sinkt oder steigt oder jedwede Veränderung bei ihm fehlt. Die Veränderung im Blutdruck ist völlig unabhängig von der Veränderung in den Blutgefäßen. Sehr oft kann Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten und zusammen hiermit Erhöhung des Blutdrucks beobachtet werden. Nach der allgemein herrschenden Ansicht bezüglich der Regulierung des Blutdrucks müßte man erwarten, daß das Absinken des Blutdrucks von Erweiterung der Blutgefäße und umgekehrt die Erhöhung des Blutdrucks von Zusammenziehung der Gefäße begleitet sein würde. Dies ist jedoch nicht der Fall. Wir hatten die Möglichkeit, durch Versuche an vielen Tieren festzustellen, daß keinerlei ursächliche Verbindung zwischen den Veränderungen im Blutdruck und denjenigen in den Blutgefäßen besteht. Bei ein und demselben Tier können verschiedene Veränderungen im Blutdruckniveau beobachtet werden — Erhöhung, Senkung und Zweiphasenreaktion, unabhängig davon, daß in allen drei Fällen gleiche Veränderungen in den Blutgefäßen der Bauchorgane und der Extremitäten eintreten. Bei gleicher funktioneller Veränderung in den Blutgefäßen können verschiedene Veränderungen im Blutdruckniveau zu bemerken sein.

Ein solcher Fall ist auf Abb. 1 dargestellt. Zu Beginn des Versuchs wurden gleichzeitig Lösungen von 0,2 mg Histamin und 0,1 mg Adrenalin, in ein und dieselbe Spritze gegeben, eingespritzt. 10 Minuten später, nachdem die Wirkung auf den Blutdruck und auf die Blutgefäße vollständig vorbei war, wurde gleichzeitig dieselbe Dosis Histamin mit 0,15 mg Adrenalin zugeführt, und endlich, 10 Minuten nach der zweiten Einspritzung, wurde dieselbe Dosis Histamin mit 0,2 mg Adrenalin verabfolgt. Mit anderen Worten, bei der zweiten und dritten Einspritzung wurden nacheinander größere Dosen — im Vergleich zu der ersten Dosis — Adrenalin angewendet. Als Ergebnis dieser drei aufeinanderfolgenden Einspritzungen erfolgen drei verschiedene Veränderungen im Niveau des Blutdrucks: Anfangs, bei der ersten Einspritzung Absinken um 40 mm, bei der zweiten Einspritzung Zweiphasenreaktion, Absinken um 20 mm und Steigen um 40 mm, und endlich, bei der dritten Einspritzung, Steigen um 70 mm. Bei allen drei aufeinanderfolgenden Einspritzungen treten die gleichen Veränderungen in den Blutgefäßen des Dünndarms und der Extremitäten ein, nämlich Erweiterung. Unabhängig davon, daß in den Blutgefäßen in allen drei Fällen die gleiche Veränderung erfolgt, unterliegt der Blutdruck drei verschiedenen Veränderungen. Aus der Abbildung geht hervor, daß, bei gleicher funktioneller Veränderung im Zustande der Blutgefäße großer Gefäßgebiete (Erweiterung), im Niveau des Blutdrucks verschiedene Veränderungen vor sich gehen, einmal Absinken, ein andermal Erhöhung und ein drittes Mal Zweiphasenveränderung. Wenn die bisherige Ansicht über die Bedeutung der Blutgefäße für die Regulierung des Blutdrucks richtig

wäre, so müßte bei allen drei Einspritzungen der Mischung Adrenalin + Histamin Absinken des Blutdrucks einsetzen, da in allen drei Fällen die Blutgefäße stark erweitert sind.

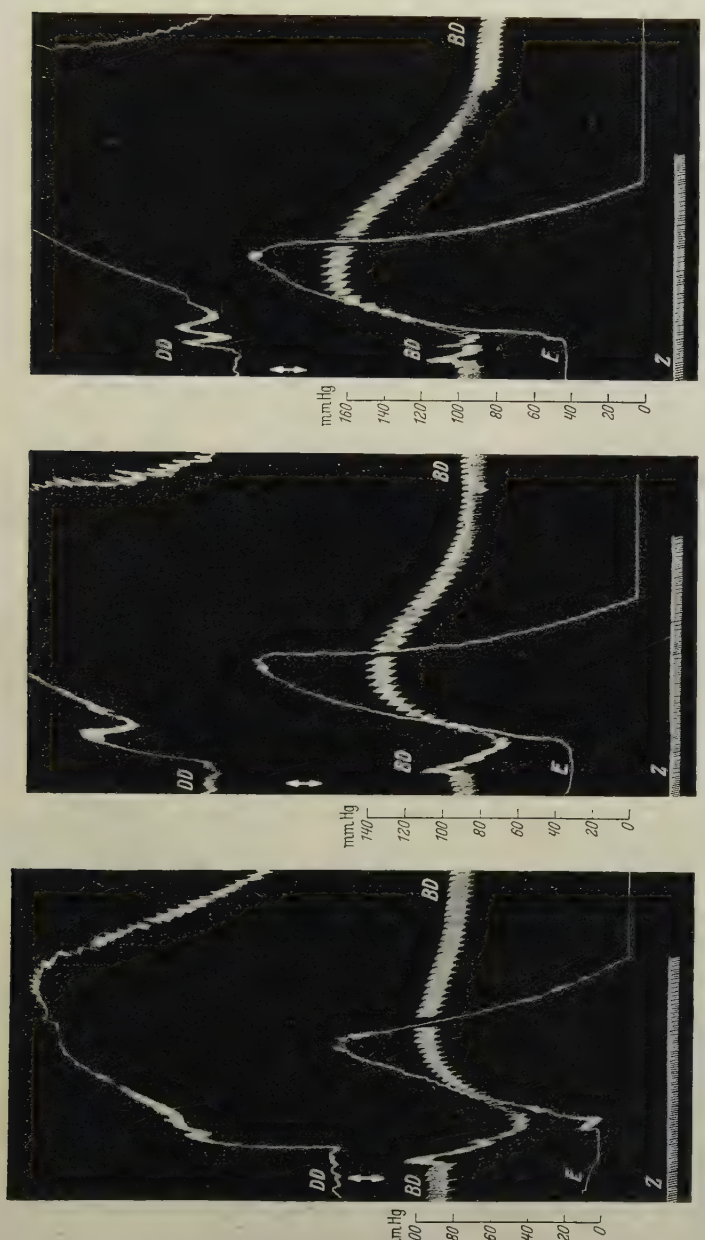


Abb. 1. 6. Juli 1939. Hund, 11 kg, ♀. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *E* = Extremitätsvolumen, *Z* = Zeit in Sek. Links: bei ⬍ wurden 0,2 mg Histamin „Roche“ + 0,1 mg Adrenalin gleichzeitig in die V. jugularis ext. injiziert. In der Mitte: 10 Min. später. Bei ⬍ wurden 0,2 mg Histamin „Roche“ + 0,15 mg Adrenalin gleichzeitig in dieselbe Vene injiziert. Rechts: noch 10 Min. später. Bei ⬍ wurden 0,2 mg Histamin „Roche“ + 0,2 mg Adrenalin gleichzeitig in dieselbe Vene injiziert.

Auf Abb. 2 ist das Ergebnis eines Versuchs an einem anderen Tiere dargestellt, bei dem die Verabfolgung einer Mischung von Adrenalin und Histamin Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten zeitigt, während zu derselben Zeit im Niveau des Blutdrucks eine Dreiphasenveränderung eintritt, ausgedrückt in anfänglicher Erhöhung, vorübergehendem Sinken und darauffolgender Erhöhung des Blutdrucks. Auch hier ist es klar, daß die Veränderung im Blutdruck von einem anderen Faktor als den Blutgefäßen bedingt ist.

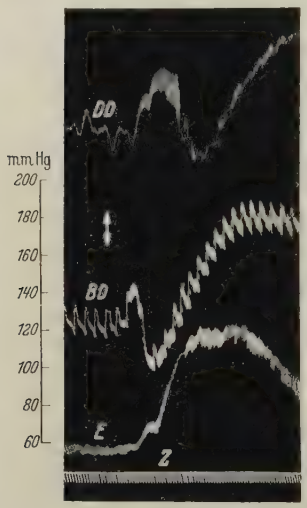


Abb. 2. 25. August 1939. Hund, 13 kg, ♂. D^D = Dünndarmvolumen, BD = Blutdruck in der A. carotis, E = Extremitätsvolumen, Z = Zeit in Sek. Bei ▲▼ wurden 0,1 mg Histamin „Roche" + 0,1 mg Adrenalin gleichzeitig in die V. jugularis ext. injiziert.

Diese Versuche zeigen, daß keinerlei ursächliche Verbindung zwischen den Veränderungen im Zustand der Blutgefäße und denjenigen im Niveau des Blutdrucks festgestellt werden kann.

B. Adrenalin + Azetylcholin.

Die gleichzeitige Einspritzung von Adrenalin und Azetylcholin verursacht am häufigsten Zweiphasenveränderung im Niveau des Blutdrucks, und zwar vorübergehendes Absinken und darauffolgende Erhöhung des Blutdrucks. Zuerst zeigt sich die Wirkung des Azetylcholins und danach diejenige des Adrenalins. In keinem einzigen Falle wird das Umgekehrte beobachtet. Die Wirkung tritt ungefähr 3—4 Sekunden nach dem Einspritzen der Mischung beider Lösungen ein und ist in typischem steilen Absinken des Blutdrucks ausgedrückt, das eine gewisse Zeitlang dauert, je nach der Dosis des Azetylcholins, und danach erfolgt allmähliche Aufbesserung des Blutdrucks, die unmittelbar in ein Steigen über das normale Niveau übergeht. Dies hält eine gewisse Zeit über an, dann beginnt der Blutdruck allmählich zu sinken und erreicht sein normales Niveau. Verallgemeinernd gesagt, zeigt sich die Wirkung der beiden Stoffe gesondert, zuerst diejenige des Azetylcholins und dann die des Adrenalins. Die beiden Veränderungen sind etwas schwächer ausgeprägt als in dem Falle, in dem die beiden Stoffe einzeln verabfolgt werden. In seltenen Fällen wird erreicht, daß die Wirkungen der beiden Stoffe einander aufheben und der Blutdruck auf seinem Niveau verharrt, ohne daß die geringste Veränderung darin eintritt.

Die gleichzeitige Einspritzung von Adrenalin und Azetylcholin verursacht starke und anhaltende Zusammenziehung der Milz, die länger

dauert als bei Verabfolgung von Adrenalin allein. Der Einfluß des Azetylcholins auf die Milz, der in allen Fällen ein zusammenziehender ist, kommt zu dem des Adrenalins hinzu, wodurch dessen Wirkung verstärkt wird.

Bei den Blutgefäßen der Nieren tritt Zusammenziehung ein. Diese dauert zuweilen längere, zuweilen kürzere Zeit an, durchschnittlich solange wie die Veränderung im Blutdruck.

In den Blutgefäßen des Dünndarms und der Extremitäten entsteht am häufigsten eine passive Veränderung, welche die Veränderung im Blutdruckniveau begleitet, d. h. anfänglich Zusammenziehung der Blutgefäße, gefolgt von Entspannung derselben, die weit über den ursprünglichen Zustand hinausgeht, wonach die Gefäße allmählich wieder ihren vorherigen Zustand zurückerlangen.

Auf Abb. 3 ist ein Fall dargestellt, in dem einem 9,5 kg schweren Hunde eine Mischung von Lösungen von 0,1 mg Adrenalin und 2 mg Azetylcholin eingespritzt worden ist. Als Ergebnis hiervon erfolgt passive Veränderung im Zustande der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten, die im großen und ganzen parallel mit der Veränderung im Blutdruckniveau verläuft. In diesem Falle sieht man deutlich, daß die Veränderung in den Blutgefäßen die Folge von der Veränderung im Blutdruck, keinesfalls aber die Ursache für sie sein kann.

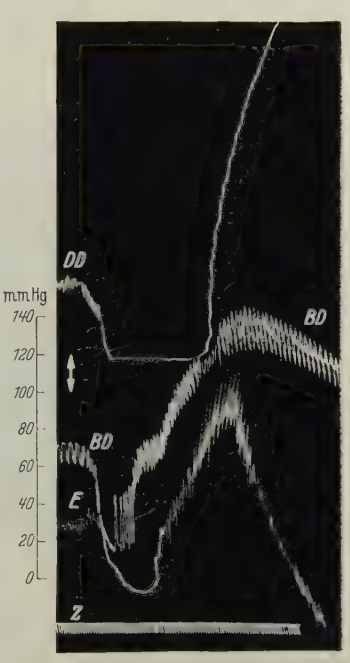


Abb. 3. 8. Juli 1939. Hund, 9,5 kg, ♀. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *E* = Extremitätsvolumen, *Z* = Zeit in Sek. Bei ⇕ wurden 2 mg Azetylcholin „Roche" + 0,1 mg Adrenalin gleichzeitig in die V. jugularis ext. injiziert.

Bei venöser Einspritzung einer Mischung von 1 mg Adrenalin und 1 mg Azetylcholin, vorgenommen an einem 12 kg schweren Hund, haben Orahovats und Gotsev (4) ein gegenseitiges Aufheben der Wirkungen beider Stoffe beobachtet, das darin zum Ausdruck kam, daß sich das Niveau des Blutdrucks nicht veränderte und auf ein und derselben Höhe verharrte, während zu gleicher Zeit starke Zusammenziehung der Milz und der Blutgefäße des Dünndarms auftrat [Abb. 4 im Jahrbuch der Medizinischen Fakultät Sofia, Bd. XVIII, S. 199 (1939), in englischer Sprache]. Wenn die Erhöhung des Widerstandes der Blutgefäße im Splanchnicusgebiet der Hauptfaktor wäre, der die Veränderungen im Niveau des Blutdrucks bedingt, so müßte man erwarten, daß der Blutdruck steigt; keinesfalls aber könnte er unverändert bleiben.

C. Gleichzeitiges Einspritzen von Histamin + Veritol.

Gleichzeitiges Verabfolgen von zwei mittelgroßen Dosen Histamin und Veritol verursacht gewöhnlich eine Zweiphasenkurve, ausgedrückt in vorübergehendem Absinken und darauffolgender Erhöhung des Blutdrucks. In denjenigen Fällen, in denen dem Tier vorher ein anderer Stoff, z. B. Ephedrin oder Sympatol eingespritzt worden ist, ruft die Verabfolgung einer Mischung von Histamin und Veritol nur Absinken des Blutdrucks, ohne Erhöhung, hervor. In diesen Fällen zeigt sich die Wirkung des Veritols überhaupt nicht.

Das gleichzeitige Einspritzen dieser beiden Stoffe verursacht langdauernde Zusammenziehung der Milz, Zusammenziehung der Blutgefäße der Nieren und Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten.

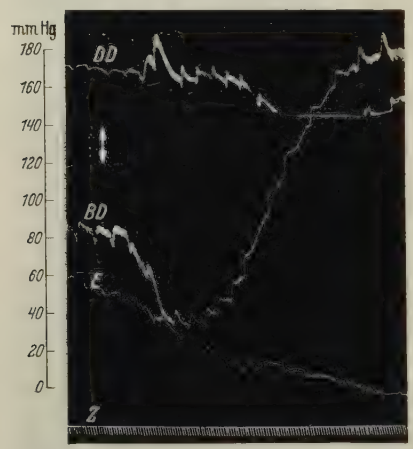


Abb. 4. 30. Juni 1939. Hund, 6 kg, ♀. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *E* = Extremitätsvolumen, *Z* = Zeit in Sek. Bei ↕ wurden 0,1 mg Histamin „Roche" + 2 mg Veritol „Knoll" gleichzeitig in die V. jugularis ext. injiziert.

Auf Abb. 4 ist das Ergebnis eines Versuchs an einem Hund dargestellt. Man sieht, daß unter der Einwirkung von 0,1 mg Histamin + 2 mg Veritol eine leichte Zusammenziehung der Blutgefäße des Dünndarms und der Extremitäten eintritt und zusammen hiermit eine Zweiphasenveränderung im Blutdruck erfolgt, nämlich Absinken um 50 mm, gefolgt von Erhöhung um 100 mm über das normale Niveau. Bei ein und derselben Veränderung im funktionellen Zustand der Blutgefäße zweier großer Gefäßgebiete — des Dünndarms und der Extremitäten — treten unmittelbar nacheinander zwei Veränderungen ein — Absinken und Steigen des Blutdrucks.

In denjenigen Fällen, in denen das gleichzeitige Verabfolgen dieser zwei Stoffe an einem Tier vorgenommen wird, dem vorher einer der obenerwähnten Stoffe — Ephedrin oder Sympatol — eingespritzt worden ist, und der Blutdruck nur Absinken, ohne darauffolgende Steigerung erfährt, ist die Blutdrucksenkung nur von einer passiven Zusammenziehung der Blutgefäße des Splanchnicusgebiets und der Extremitäten ohne jegliche Erweiterung begleitet.

D. Gleichzeitiges Einspritzen von Histamin + Ephedrin.

Die Wirkung des gleichzeitigen Verabfolgens von Histamin und Ephedrin auf den Blutdruck, die Milz und die Blutgefäße des Dünndarms, der

Nieren und der Extremitäten ist gewöhnlich dieselbe wie auch bei der gleichzeitigen Verabfolgung von Histamin und Veritol. In denjenigen Fällen, in denen die Mischung von Histamin und Ephedrin einem Tier zugeführt wird, dem vorher Sympatol, Histamin oder Ephedrin eingespritzt worden ist, erfolgt nur Absinken des Blutdrucks, begleitet von passiver Abnahme des Umfangs der Extremitäten und des Dünndarms.

Auf Abb. 5 erblickt man das Ergebnis des Versuchs an einem 13 kg schweren Hund, dem zu Beginn des Versuchs 3 cg Sympatol und etwa 10 Minuten später eine Mischung von 0,2 mg Histamin + 5 cg Ephedrin eingespritzt wurden. Aus der Abbildung geht hervor, daß nur Absinken des Blutdrucks erfolgt, welch letzterer um 50 mm unter sein Ausgangsniveau fällt. Trotzdem die Dosis des Ephedrins verhältnismäßig ziemlich groß ist, zeigt sich die Wirkung dieses Stoffes nicht. Außerdem sieht man, daß gleichzeitig mit dem Absinken des Blutdrucks eine passive Veränderung erfolgt, ausgedrückt in einer Abnahme des Umfangs des Dünndarms und der Extremitäten. Auch in diesen Fällen ist die Veränderung in den Blutgefäßen die Folge und nicht die Ursache für die Veränderung im Blutdruck.

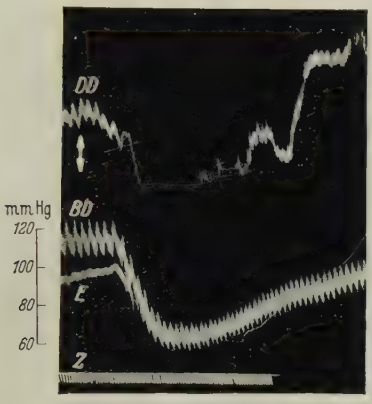


Abb. 5. 26. Februar 1940. Hund, 13 kg, ♀. *DD* = Dünndarmvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *E* = Extremitätsvolumen, *Z* = Zeit in Sek. Bei ↕ wurden 0,2 mg Histamin „Roche" + 5 cg Ephedrin „Bayer" gleichzeitig in die V. jugularis ext. injiziert. 10 Min. vorher wurden 3 cg Sympatol in dieselbe Vene injiziert.

Abb. 6. 23. Januar 1940. Hund, 10 kg, ♂. *Z* = Zeit in Sek., *M* = Milzvolumen, *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *DD* = Dünndarmvolumen. Bei ↕ wurden 2 mg Acetylcholin „Roche" + 0,5 mg Nicotin „Kahlbaum" gleichzeitig in die V. jugularis ext. injiziert.

E. Gleichzeitiges Einspritzen von Azetylcholin + Nikotin.

Die Verabfolgung von mittleren Dosen Azetylcholin + Nikotin verursacht gewöhnlich Zweiphasenveränderung im Niveau des Blut-

drucks — vorübergehendes Sinken und darauffolgendes Steigen, das gewisse Zeit andauert, bis der Blutdruck auf sein Ausgangsniveau fällt.

Auf Abb. 6 ist das Ergebnis eines Falles wiedergegeben, in dem unter der Einwirkung von 2 mg Azetylcholin + 0,5 mg Nikotin, einem 12 kg schweren Hunde verabfolgt, starke Zusammenziehung der Milz und der Blutgefäße des Dünndarms erfolgt. Der Blutdruck sinkt um 80 mm ab, worauf er sich langsam bis zu seinem Ausgangsniveau erhöht und es schnell um 30 mm übersteigt; dann sinkt er aufs neue bis zu seinem ursprünglichen Niveau. In diesem Falle treten während der Zeit, zu der die Blutgefäße aus dem Splanchnicusgebiete zusammengezogen sind, drei verschiedene Veränderungen im Blutdruckniveau auf, nämlich: Absinken, Steigen und normales Niveau (die Punkte *a*, *b* und *c* auf Abb. 6).

II. Aufeinanderfolgendes Einspritzen zweier verschiedener Stoffe bei ein und demselben Tier.

In einer anderen Versuchsreihe wurden die Veränderungen in den Blutgefäßen und dem Blutdruck bei aufeinanderfolgendem Einspritzen zweier Stoffe bei ein und demselben Tier untersucht. Zu Beginn des Versuchs wird eine bestimmte Dosis des in Betracht kommenden Stoffes verabfolgt, und nachdem die Wirkung vorüber ist, spritzt man in dieselbe Vene des Tieres einen anderen Stoff ein, der die umgekehrte Wirkung auf den Blutdruck ausübt. Auf diese Weise kann verfolgt werden, mit welchen Veränderungen in den Blutgefäßen die Veränderungen im Blutdruck bei ein und demselben Tiere verlaufen. Wenn der Widerstand, der im Blutkreislaufsystem entsteht, eine der Hauptursachen für die Veränderungen im Blutdruck wäre, so müßte man erwarten, daß zwei einander entgegengesetzte Veränderungen im Blutdruck, nämlich Absinken und Steigerung, mit zwei einander entgegengesetzten Veränderungen im Zustande der Blutgefäße — Erweiterung und Zusammenziehung — einhergehen würden.

Wenn einem Tier zu Beginn des Versuchs Histamin eingespritzt wird, und einige Minuten später Adrenalin, so wird im ersten Falle, wie bekannt, Absinken und im zweiten Erhöhung des Blutdrucks einsetzen. Nach Histamin erfolgt die in der I. Mitteilung beschriebene Zusammenziehung der Blutgefäße, und nach der Verabfolgung des Adrenalins tritt, wenn auch seltener, ebenfalls Zusammenziehung der Blutgefäße ein. Bei solchen Versuchen kann in allen beiden Fällen Zusammenziehung der Blutgefäße beobachtet werden, unabhängig davon, daß einmal Absinken und im nächsten Augenblick Erhöhung des Blutdrucks vorhanden ist. Das sind Veränderungen, die in allen Fällen beobachtet werden, in denen das Adrenalin Zusammenziehung der Blutgefäße hervorruft, was in ungefähr $^1/_3$ der Fälle eintritt. Bei gleicher Veränderung im Zustand der Blutgefäße sehen wir einmal Absinken, ein andermal Erhöhung des Blutdrucks erfolgen.

Wenn zu Anfang des Versuchs Adrenalin verabfolgt wird, so erfolgt oftmals Erweiterung der Blutgefäße des Dünndarms. Spritzt man danach Histamin ein, so tritt wieder Erweiterung derselben Gefäße und Absinken des Blutdrucks ein (s. I. Mitteilung über die Wirkung des Histamins in den Fällen, in denen vor ihm ein anderer Stoff eingespritzt worden ist). Auch in diesen Fällen erfolgen bei ein und derselben funktionellen Veränderung im Zustand der Gefäße des Dünndarms (Erweiterung) zwei einander entgegengesetzte Veränderungen im Blutdruck – Absinken und Erhöhung.

Die Einspritzung von Histamin zu Beginn des Versuchs verursacht Zusammenziehung der Blutgefäße der Nieren. Wenn etwas später dem-

Abb. 7. 29. Dezember 1939. Hund, 9 kg, ♂. *BD* = Blutdruck in der A. carotis, *N* = Nierenvolumen, *Z* = Zeit in Sek. Bei ↑ wurde 0,2 mg Histamin „Roche", bei ↓ wurden 3 cg Sympatol in die V. jugularis ext. injiziert.

selben Tier venös Sympatol zugeführt wird, so erfolgt wieder Zusammenziehung derselben Blutgefäße. Der Blutdruck fällt im ersten und steigt im zweiten Fall. Auch hier sehen wir, daß bei gleicher Veränderung im Zustande der Blutgefäße der Nieren zwei einander entgegengesetzte Veränderungen, und zwar bei ein und demselben Tier entstehen. Das Ergebnis eines solchen Versuchs ist auf Abb. 7 dargestellt.

Bei nacheinander vorgenommenem Einspritzen von Azetylcholin — zu Beginn des Versuchs — und Adrenalin — etwas später — hat Gotsev (5) in allen beiden Fällen Zusammenziehung der Blutgefäße des Splanchnicusgebietes beobachtet, die unabhängig davon eintrat, daß nach dem Azetylcholin Absinken und nach dem Adrenalin Erhöhung des Blutdrucks erfolgte [siehe Abb. 14 des Jahrbuchs der Medizinischen Fakultät Sofia, Bd. XIII (1934), S. 524, mit französischer Zusammenfassung).

Es ist deutlich zu sehen, daß auch in den Fällen, in denen ein und demselben Tier nacheinander zwei verschiedene Stoffe eingespritzt werden, die Veränderungen im Blutdruckniveau vollkommen unabhängig von dem

Zustand, in dem sich die Blutgefäße zu dieser Zeit befinden, eintreten. Keinerlei ursächliche Verbindung kann festgestellt werden. Bei gleicher Veränderung im Zustand der Gefäße können zwei einander entgegengesetzte Veränderungen im Zustand der Blutgefäße beobachtet werden.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus den dargelegten Ergebnissen geht deutlich hervor, daß die bekannten Veränderungen, die im Blutdruck unter dem Einfluß einer Reihe von Stoffen erfolgen, nicht von den im Zustande der Blutgefäße eintretenden Veränderungen abhängig sind. Bei ein und derselben Veränderung in den Gefäßen (z. B. Erweiterung) kann sowohl Erhöhung wie auch Absinken des Blutdrucks bemerkt werden, und es kann auch gar keine Veränderung im Blutdruck eintreten. Andererseits wiederum kann ein und dieselbe Veränderung im Niveau des Blutdrucks, z. B. Erhöhung, einmal mit Erweiterung, ein anderes Mal mit Zusammenziehung der Blutgefäße verlaufen. Eine solche zwiefache Veränderung im Blutdruck kann an ein und demselben Tier beobachtet werden. Die Blutgefäße erfahren in den meisten Fällen eine passive Veränderung, welche auf die Veränderungen im Blutdruck folgt. Die subcutane, intramuskuläre und intravenöse Einspritzung von Histamin und Azetylcholin verursacht passive Abnahme des Umfangs der Organe, infolge Absinken des Blutdrucks, und die Verabfolgung von Adrenalin, Veritol u. a. ruft am häufigsten passive Erweiterung der Gefäße, welche auf die Blutdruckerhöhung folgt, hervor. Anders steht es um die intraarterielle Zuführung dieser Stoffe, wobei diese gerade die entgegengesetzte Wirkung auf die Blutgefäße ausüben. Wie dies in den anderen Mitteilungen dargelegt wurde, führt die intraarterielle Anwendung von Histamin und Azetylcholin zu Erweiterung der Blutgefäße, zu denen der Stoff direkt gelangt, und Zusammenziehung von denjenigen, die er erst erreicht, nachdem er durch das Herz gegangen ist. Arteriell eingespritzt, verursachen das Adrenalin und das Ephedrin Zusammenziehung der Gefäße, zu denen sie direkt gelangen, und Erweiterung von denjenigen, die sie erreichen, nachdem sie durch das Herz gegangen sind.

Bei subcutanen, intramuskulären und intravenösen Einspritzungen, die am meisten angewendet werden, können die im Zustand der Blutgefäße eintretenden Veränderungen nicht in ursächlichen Zusammenhang mit den Veränderungen im Blutdruck gebracht werden. Zahlreiche Versuche bestätigen dies. Es ist wahr, daß die Veränderung im Widerstande des Blutkreislaufsystems an und für sich das Niveau des Blutdrucks verändern kann. Hieran ist nicht zu zweifeln. So führt z. B. die Verabfolgung von Adrenalin in den Anfangsteil der Aorta zu starker Erhöhung des Blutdrucks, bevor noch das Adrenalin zum Herzen gelangt ist. Ebenso führt die Erweiterung großer Gefäßgebiete durch intraarterielle Anwendung von Azetylcholin zum Absinken des Blutdrucks. Die Zuführung aller dieser Stoffe

geht jedoch gewöhnlich so vor sich, daß der in Betracht kommende Stoff zuerst in die Venen und dann in die Arterien gelangt. Bei dieser Art der Verabfolgung erreicht der Stoff zuerst das Herz, wo er seine Wirkung ausübt, und danach folgen Veränderungen in den Gefäßen großer Gebiete, die meistens passiv sind. Allerdings gibt es Organe, wie z. B. die Milz und die Nieren, die sich durch Adrenalin regelmäßig zusammenziehen, und deren Veränderung folglich in ursächlichen Zusammenhang mit der Veränderung im Blutdruck gebracht werden kann; es muß aber hervorgehoben werden, daß das Adrenalin auch bei eviscerierten Tieren die in bezug auf Größe des Blutdrucks gleiche Veränderung wie bei ganzen Tieren verursacht. Außerdem zieht sich die Milz auch durch Azetylcholin zusammen, wo der Blutdruck sinkt, was auch von Ferguson, Ivy und Greengard (6) festgestellt worden ist, und die Blutgefäße der Nieren erfahren regelmäßig eine Erweiterung durch Ephedrin und Veritol, trotzdem diese Stoffe den Blutdruck auf ein recht hohes Niveau steigen lassen, wo er lange Zeit verharrt.

Folglich können bei venöser gesonderter oder kombinierter Verabfolgung der obenerwähnten Stoffe die im Zustande der Blutgefäße eintretenden Veränderungen die im Niveau des Blutdrucks vor sich gehenden Veränderungen nicht erklären.

Die Ursache für die Veränderung im Niveau des Blutdrucks sind nicht die Blutgefäße; diese nehmen in den meisten Fällen nur passiven Anteil. Die Bedeutung der Blutgefäße für die Regulierung des Blutdrucks ist bisher überschätzt worden.

Zusammenfassung.

In Versuchen an Hunden wurde der Zusammenhang zwischen den Veränderungen im Blutdruck und denjenigen im Zustande der Blutgefäße bei gleichzeitigem wie auch bei aufeinanderfolgendem Einspritzen von zwei Stoffen untersucht, und zwar von solchen Stoffen, die einander entgegengesetzte Wirkung auf den Blutdruck ausüben. Es wurde die Wirkung von Adrenalin und Histamin, Adrenalin und Azetylcholin, Histamin und Ephedrin, Histamin und Veritol u. a. erforscht.

Die Ergebnisse der Versuche zeigen, daß die Veränderungen im Blutdruck unabhängig von denjenigen im Zustande der Blutgefäße verlaufen. Gleichzeitig mit Zusammenziehung der Blutgefäße kann Absinken des Blutdrucks oder Ausbleiben jeglicher Veränderung im Blutdruck beobachtet werden. Gleichzeitig mit Erweiterung der Blutgefäße kann Erhöhung des Blutdrucks erfolgen. Bei ein und demselben Tier kann man, bei der gleichen Veränderung in den Blutgefäßen (Erweiterung) nacheinander sowohl Absinken wie auch Steigen des Blutdrucks beobachten. An ein und demselben Tier bemerkt man bei der gleichen Veränderung im Niveau des Blutdrucks (z. B. Erhöhung) einmal Zusammenziehung, einmal Erweiterung der Blutgefäße usw.

Bei intravenöser Anwendung einer Reihe von Stoffen kann keine Abhängigkeit der Veränderungen im Blutdruck von denjenigen in den Blutgefäßen festgestellt werden. Bei Veränderung im Blutdruckniveau erfahren die Blutgefäße in den meisten Fällen nur passive Veränderungen. Die Bedeutung der Blutgefäße für die Regulierung des Blutdrucks wird gewöhnlich überschätzt.

Literatur.

1) Meyer, H. H., u. R. Gottlieb: Experimentelle Pharmakologie. Urban-Schwarzenberg 1933. — 2) Orahovats, D. P., u. T. Gotsev: Jahrb. Med. Fakultät Sofia **12**, 81 (1933). — 3) Orahovats, D. P., u. T. Gotsev: Pflügers Arch. **235**, 367 (1935). — 4) Orahovats, D. P., u. T. Gotsev: Jahrb. Med. Fakultät Sofia **18**, 191 (1939). — 5) Gotsev, T.: Jahrb. Med. Fakultät Sofia **13**, 509 (1934). — 6) Ferguson, J., A. C. Ivy u. H. Greengard: Amer. J. Physiol. **117**, 701 (1936).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. W. (Direktor: Prof. Lendle.)

Vergleichende Untersuchungen über die temperatursenkende und gefäßlähmende Eigenschaft verschiedener Alkohole.

Von

H. Genuit.

(Eingegangen am 3. Juni 1940.)

Der Genuß übermäßiger Mengen alkoholischer Getränke führt auf Grund von Störungen der Wärmeregulation zu einer starken Abkühlung des Organismus. Es ist bekannt, daß Betrunkene im Winter häufig der Gefahr der Erfrierung erliegen, weil sie die Kälte in der gut durchbluteten Haut nicht empfinden und dabei einem besonders starken Wärmeverlust durch die erweiterten Hautgefäße ausgesetzt sind. Dies unzweckmäßige Verhalten wird wohl meistens auf die narkotische Wirkung des Alkohols auf das Zentralnervensystem, somit auch auf das Wärmeregulationszentrum zurückgeführt. Temperatursenkungen wurden experimentell erst bei toxischen Dosierungen beobachtet (vgl. die Literatur bei Kochmann in Heffters Hdb. d. exper. Pharm. I, S. 352f.). Eine direkte Beeinflussung der Gefäßweite ist als Ursache dafür wenig beachtet worden.

Im Rahmen anderer, unveröffentlichter Untersuchungen unseres Instituts über die Entstehung und Verhütung des Alkoholkaters (vgl. auch I. von Notz-Schwarz[1]) war die Frage aufgekommen, ob die bekannten Nachwirkungen des Alkohols und anderer Narkotika vielleicht auf Schädigungen des Gefäßsystems beruhen könnten. Ob dabei vielleicht eine Störung in der Wanddurchlässigkeit der Gefäße einen Zustand der „serösen Entzündung" im Sinne Eppingers[2] verursachen kann, im Zentralnervensystem also z. B. vielleicht einen gewissen Grad von Hirnödem mit den entsprechenden Folgen. Auf diese Möglichkeit weisen z. B. Angaben über die Erweiterung von Hirngefäßen durch Alkohol bei Katzen und Kaninchen mit Blutaustritten und Ödem in der Umgebung der Gefäße hin (Köögerdahl[3]).

Heubner[4] hat freilich in einem neuen Überblick über Gesundheitsschädigungen durch Genußgifte betont, daß ihm kein tatsächlicher Beweis für die allgemeine Annahme bekannt sei, wonach der chronische Alkohol-

[1] v. Notz-Schwarz, I.: Inaug.-Diss. Gießen 1938. — [2] Eppinger, H.: Seröse Entzündung. Wien 1936. — [3] Köögerdal, E.: Fol. neuropath. eston. **5**, 54 (1926); zit. nach Kochmann in Heffters Hdb. exper. Pharm., Erg.-Werk Bd. 2, S. 220. — [4] Heubner, W.: Nauheim. Fortbild.lehrg. **13**, 64 (1937).

mißbrauch zu Gefäßschädigungen führen könne. Er erörtert dabei auch die Ergebnisse experimenteller Arbeiten, nach denen vielleicht die Abbaustoffe des Äthylalkohols, z. B. der Azetaldehyd (O. Loeb) oder Begleitstoffe des Äthylalkohols wie Amylalkohol u. a. (Mc. Nider [5]) Gefäß- und Organschädigungen auslösen sollten.

Über die akuten Wirkungen des Äthylalkohols auf die Blutgefäße ist eine große Anzahl von Untersuchungen ausgeführt worden. Kochmann (vgl. Heffters Hdb. exper. Pharmakol. I, S. 320f.) hat bei seiner Besprechung der Alkoholkreislaufwirkung darauf hingewiesen, daß für die Blutdrucksteigerung durch kleine Gaben von Alkohol keine direkten Gefäßwirkungen des Alkohols die Ursache sein können, weil die bei der notwendigen Dosierung (1 ccm abs. Alkohol pro kg Kaninchen) maximal vorhandene Konzentration von 1‰ Alkohol keinen Einfluß auf die Gefäßweite ausübt. Die Veränderungen in Blutverteilung und Blutdruck sollen vielmehr über zentrale vasomotorische Erregungen zustande kommen. Höhere Dosen vermögen andererseits auch lähmend auf die Vasomotorenregulation zu wirken.

Im Ergänzungsband II zu Heffters Hdb. exper. Pharmakol., S. 219f. hat Kochmann noch eine weitere Anzahl neuerer Arbeiten zusammengestellt, in denen die Äthylalkoholwirkung auf die peripheren Gefäße bei Durchströmung geprüft wurde. Danach kann bei Verwendung geeigneter Konzentrationen eine Dilatation auftreten; in höheren Konzentrationen kommt es dagegen sogar zu einer Verengerung (Ordunskij [6], Siverzev [7], Grabovskaja Scerbowa [8]). Es liegen aber anscheinend noch keine Angaben über das Verhalten verschiedener Alkohole vor.

Es schien aus praktischen und theoretischen Erwägungen heraus von Interesse, deren Wirkung vergleichend zu prüfen. Einmal konnte damit gerechnet werden, daß vielleicht einige Alkohole besonders starke Gefäßwirkungen ausüben und sich dadurch im Hinblick auf die Möglichkeit einer besonderen Nachschädigung beim Genuß (Katerwirkung) auszeichnen. Andererseits konnte die Beteiligung einer peripheren Gefäßlähmung an der temperatursenkenden Wirksamkeit der Alkohole vielleicht auch in einer entsprechenden Parallele des Verhaltens bei den einzelnen Alkoholen erkennbar werden.

Bei dieser vergleichend quantitativen Prüfung der Wirksamkeit von Alkoholen auf Gefäße und Körpertemperatur konnte ferner auch die Frage berücksichtigt werden, ob die Wirksamkeit in der homologen Reihe nach dem von Richardson [9] angegebenen Gesetz mit Verlängerung der C-Kette fortschreitet. Diese Feststellung ist früher auch von Traube [10] und Fühner [11] an verschiedenen Objekten gemacht worden. Gelegentliche Nachuntersuchungen haben das Fortschreiten der Wirksamkeit nach der Reihe $1 : 3^1 : 3^2 : 3^3$ usw. meist nur in Annäherung und nur bei den ersten Gliedern der Alkoholreihe bestätigen können. Es scheint sich dabei freilich

[5] Mc Nider: J. Pharmacol. (Am.) **26**, 97 (1925). — [6] Ordunskij, J.: Arch. biol. Nauk. **35**, 156 (1934); zit. nach Kochmann: l. c. — [7] Siverzev, J.: zit. nach Kochmann: l. c. — [8] Grabovskaja-Scerbova, V.: Russk. fisiol. Z. **9**, 223 (1926); zit. nach Kochmann: l. c. — [9] Richardson, B. W.: Med. Tim. (Am.) **1869**, II, S. 703; zit. nach Winterstein: Die Narkose (1919). — [10] Traube: Pflügers Arch. **105**, 541 (1904). — [11] Fühner, H.: Z. Biol. **57**, 469, (1912).

keineswegs allein um das Verhalten einer spezifischen narkotischen Wirkung am Zentralnervensystem zu handeln, sondern die Regel gilt auch für die Wirkung der Alkohole auf periphere, nicht nervöse Organe, Fermente usw.

Methodik.

Die temperatursenkende Wirksamkeit der Alkohole wurde an Kaninchen geprüft, bei welchen durch subcutane Injektion von Colitoxin ein künstliches Fieber erzeugt worden war. Zu diesem Zweck wurde von Colikulturen* je 1 Öse auf 10 ccm Bouillon überimpft und diese Aufschwemmung nach 48stündigem Wachsen im Brutschrank durch zweimaliges Kochen abgetötet. 3—4 ccm der Lösung pro kg wurden um 12^h injiziert. Danach war die Körpertemperatur auf Werte von 40—41° gesteigert. Die Temperatursteigerung hielt einige Stunden an.

Die Alkohollösungen wurden gleichfalls subcutan um 15^h eingespritzt unter Berechnung der Dosis des absoluten Alkohols pro kg Körpergewicht. Die maximale Wirkung erfolgte spätestens nach 2—3 Stunden, fiel also auf den flachen Gipfel der Fieberkurven. Der Grad der Temperatursenkung wurde unter Bezug auf die fieberhafte Ausgangstemperatur (15^h) mit folgenden Zeichen angegeben:

++,	wenn die Temperatursenkung	mehr als	2°	betrug,	
+,	„	„	„	„	1° „
(+),	„	„	„	0,05—1,0°	„
±,	„	„	„	0,03—0,5°	„

Bei der Prüfung der Alkoholgefäßwirkung wurden die in einer Arbeit von Lendle und Puhlmann[12] festgelegten Erfahrungen über die Abschwächung der Adrenalinempfindlichkeit bei Durchströmung des isolierten Kaninchenohres mit bestimmten Pharmaka beachtet. Die Alkoholwirkung wurde in verschiedenen Konzentrationen jeweils 30 Min. oder länger durch das nach Krawkow-Pissemski[13] präparierte Kaninchenohr geleitet. Es wurden dabei Veränderungen der Ausflußgeschwindigkeit (Gefäßweite) und der Adrenalinempfindlichkeit bei Injektion der für eine Gefäßveränderung notwendigen Grenzdosierung ermittelt. Anschließend wurde wieder auf Ringerdurchfluß umgeschaltet und die Reversibilität der Alkoholwirkung geprüft. Die verwendeten Alkoholpräparate waren teils Reinpräparate der Firma Kahlbaum, teils Präparate nach D. A. B. 6. Für die vergleichende Prüfung wurde herangezogen Methyl-, Äthyl-, n-Propyl-, n-Amyl-Alkohol, Fuselalkohol** und Amylenhydrat als tertiärer Alkohol.

I. Gefäßlähmende Wirksamkeit der verschiedenen Alkohole.

Über die Anordnung der Versuche und die Einzelergebnisse mit reinem Alkohol mögen die in Tabelle 1 zusammengestellten Protokollauszüge einen Überblick geben. In dieser Tabelle ist in der letzten Spalte die jeweilige Adrenalinempfindlichkeit unter Angabe der geprüften Grenzdosierung und des Grades der damit erzielten Gefäßveränderung verzeichnet. Dieser ist mit ++, +, (+), ± in absteigender Folge gekennzeichnet.

---

* Wir verdanken diese dem Hygienischen Institut der Universität (Direktor: Prof. Dr. K. W. Jötten). — [12] Lendle, L., u. H. Puhlmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 122 (1939). — [13] Pissemski, S. A.: Pflügers Arch. **156**, 426 (1914). — ** Der Reichsmonopolverwaltung für Branntwein (Berlin-Lichtenberg) danken wir für die freundliche Überlassung von Fuselöl zur Durchführung dieser Versuche.

Tabelle 1. Methylalkoholdurchströmung am isolierten Kaninchenohr.

Versuch Nr.	Durchströmung: Konzentration	Durchströmung: Dauer	Änderungen der Durchflußgeschwindigkeit (Zeit pro 10 gtt)	Adrenalinempfindlichkeit: Adrenalindosierung	Adrenalinempfindlichkeit: Wirkung
1	Ringer		—	0,20 ccm $^1/_5$ Mill.	+
	3 %	30′	bleibt 25″	0,20 „ $^1/_5$ „	++
	Ringer	28′	25 auf 28″	0,10 „ $^1/_{10}$ „	++
	4 %	38′	12 „ 8″	0,10 „ $^1/_{10}$ „	++
3	Ringer		—	0,15 „ $^1/_5$ „	(+)
	5 %	32′	13 auf 10″	0,15 „ $^1/_5$ „	+
	7 %	50′	10 „ 8″	0,30 „ $^1/_5$ „	(+)
	Ringer		8,5 „ 12″	0,15 „ $^1/_5$ „	(+)
	9 %	50′	12 „ 9,5″	0,20 „ $^1/_2$ „	(+)
12	Ringer		—	0,15 „ $^1/_2$ „	+
	6 %	30′	13 auf 12″	0,10 „ $^1/_2$ „	+
	7 %	30′	bleibt 13″	0,10 „ $^1/_1$ „	++
	9 %	25′	13 auf 14″	0,20 „ $^1/_1$ „	±
	Ringer	3 h lang	starke Verlangsamung	0,10 „ $^1/_{100\,000}$	++
				0,10 „ $^1/_{10}$ Mill.	++
14	Ringer		—	0,20 „ $^1/_2$ „	(+) u. +
	7 %	40′	bleibt 13 bis 14″	0,20 „ $^1/_1$ „	+
				0,20 „ $^1/_2$ „	±
	8 %	55′	14 auf 18″	0,20 „ $^1/_1$ „	(+)
				0,30 „ $^1/_1$ „	+
	Ringer	10′	19 „ 26″	0,20 „ $^1/_2$ „	(+)
17	Ringer		—	0,10 „ $^1/_{200}$ „	+
	9 %	34′	19 auf 17″	0,20 „ $^1/_{100}$ „	±
	Ringer		starke Verlangsamung	0,10 „ $^1/_{200}$ „	++
21	Ringer		—	0,20 „ $^1/_5$ „	(+)
	8 %	35′	bleibt 18 bis 19″	0,20 „ $^1/_5$ „	+
	9 %	40′	19 auf 22″	0,20 „ $^1/_1$ „	(+)
	Ringer		22 „ 40″	0,20 „ $^1/_5$ „	++
23	Ringer		—	0,10 „ $^1/_{100}$ „	(+)
	9 %	31′	18 auf 14″	0,20 „ $^1/_1$ „	(+)
	Ringer		14 „ 21″	0,20 „ $^1/_{10}$ „	(+)

Die Ergebnisse mit den in gleicher Weise geprüften anderen Alkoholen sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Hier sind in der letzten Spalte die Änderungen der Adrenalinempfindlichkeit nur bei der Durchströmung mit den Grenzkonzentrationen angegeben. Als Maß der Empfindlichkeitsveränderungen ist das Verhältnis der erforderlichen Grenzdosen verwendet worden. Eine Verminderung der Empfindlichkeit auf „$^1/_2$“ bedeutet danach also, daß für die Erzielung der gleichen Vasokonstriktion die doppelte Adrenalindosis erforderlich ist.

Die Befunde in Tabelle 2 mögen noch durch einige kurze Angaben über das Verhalten der Gefäßweite bei Durchströmung mit verschiedenen Alkoholen ergänzt werden. Diese Wirkung war nicht so deutlich zu erkennen wie die Abschwächung der Adrenalinempfindlichkeit, weil die

Tabelle 2. Alkoholgefäßwirkungen.

Alkohole	Konzentration	Verminderung der Adrenalinempfindlichkeit auf
Methylalkohol	6 %	—
	7 %	$\frac{1}{2}$; $\frac{1}{2}$; $\frac{1}{2}$
	8 %	$\frac{1}{3}$; —
	9 %	$\frac{1}{3}$; $\frac{1}{20}$; $\frac{1}{4}$; $\frac{1}{10}$; $\frac{1}{200}$
Äthylalkohol	1 %	$\frac{1}{4}$; —; $\frac{1}{5}$
	2 %	—; $\frac{1}{4}$; $\frac{1}{2}$; $\frac{1}{40}$; —; —
	3 %	$\frac{1}{80}$; $\frac{1}{20}$; —
	4 %	$\frac{1}{2000}$; $\frac{1}{40}$
n-Propylalkohol	1 %	—; $\frac{1}{2}$; —
	2 %	—; $\frac{1}{2000}$; —; $\frac{1}{10}$; $\frac{1}{2}$
	3 %	$\frac{1}{4}$; $\frac{1}{50}$; $\frac{1}{50}$
	4 %	$\frac{1}{2000}$; $\frac{1}{4}$
n-Amylalkohol	0,10 %	—; $\frac{1}{10}$; —; —
	0,15 %	—; $\frac{1}{2}$; $\frac{1}{2}$
	0,20 %	$\frac{1}{10\,000}$; $\frac{1}{2}$; $\frac{1}{20}$; $\frac{1}{5000}$
Fuselalkohol	0,20 %	$\frac{1}{2}$; $\frac{1}{2}$; $\frac{1}{2}$; $\frac{1}{2}$
	0,30 %	$\frac{1}{20}$; $\frac{1}{10}$; $\frac{1}{5}$; $\frac{1}{10}$
	0,40 %	$\frac{1}{10}$; $\frac{1}{200}$
Amylenhydrat	0,70 %	$\frac{1}{2}$; $\frac{1}{2}$
	1,0 %	—; $\frac{1}{4}$; $\frac{1}{20}$; $\frac{1}{5000}$
	1,5 %	$\frac{1}{6}$; $\frac{1}{1000}$; $\frac{1}{4}$; $\frac{1}{50}$
	2,0 %	$\frac{1}{4}$; $\frac{1}{2000}$; $\frac{1}{1000}$

Adrenalinhemmende Grenze:

Methylalkohol	7	−9 %
Äthylalkohol	2	−3 %
n-Propylalkohol	2	−3 %
n-Amylalkohol	0,15	−0,2 %
Fuselalkohol	0,2	−0,3 %
Amylenhydrat	0,7	−1,0 %

Gefäße der isolierten Kaninchenohren ohne den normalen nervösen Vasokonstriktorentonus fast maximal erweitert sein können. Vor allem nahm die Gefäßdilatation keineswegs immer mit Steigerung der Alkoholkonzentrationen entsprechend zu. Es konnten bei den Versuchen aber etwa folgende Feststellungen getroffen werden:

Methylalkohol wirkte mäßig gefäßerweiternd mit 4—6 %, mit Konzentrationen bis 9 % keineswegs stärker.

Äthylalkohol wirkte bis 3 % nicht wesentlich dilatierend, gelegentlich aber schon mit 1—2 %. 4 % verengerte auch schon.

n-Propylalkohol wirkte unregelmäßig und erweiterte mit 2—4 % gelegentlich etwas.

n-Amylalkohol wirkte mit 0,1—0,2 % zum Teil sehr deutlich dilatierend.

Fuselalkohol wirkte mit 0,3—0,4 % mäßig und unregelmäßig dilatierend.

Amylenhydrat wirkte mit 1—2 % deutlich dilatierend.

Die in Tabelle 2 ermittelten Grenzkonzentrationen für die Abschwächung der Adrenalinwirkung blieben für die einzelnen Alkohole ungefähr in dem Bereich der laut vorstehender Zusammenstellung dilatierenden Konzentrationen. Die Wirkung war immer reversibel bei Umschaltung auf Ringerdurchströmung. Nach den früheren Erfahrungen von Lendle und Puhlmann [12] kann daher die Alkoholwirkung auf die Gefäße in die Gruppe anderer narkotisch und spasmolytisch wirksamer Stoffe eingereiht werden, bei welchen nervöse und muskuläre Elemente der Gefäße etwa gleichzeitig beeinflußt werden.

Die Wirksamkeit der Alkohole steigt in der homologen Reihe vom Methylalkohol bis zum n-Amylalkohol an; freilich nicht ganz gemäß dem Gesetz von Richardson [9]. Insbesondere ist die von Führer [11] angegebene Steigerung der Wirksamkeit in den Potenzenverhältnissen (vgl. S. 506) nicht so eindeutig zu erkennen. Äthyl- und Propylalkohol zeigen z. B. keine wesentlichen Wirksamkeitsunterschiede, dagegen ist die Wirksamkeit des n-Amylalkohols etwa 10—20fach stärker als die des Propylalkohols.

II. Temperatursenkende Wirkung der verschiedenen Alkohole.

Die Ergebnisse der Einzelversuche sind in den folgenden Tabellen 3 bis 8 kurz zusammengestellt. Dabei ist für die einzelnen Dosierungen auch in der letzten Spalte der Grad der narkotischen Wirkung kurz verzeichnet. Die temperatursenkenden Dosen lösten meist noch keinen Lähmungszustand mit passiver Seitenlage (S.L.) aus. n-Amylalkohol und Fuselalkohol mußten wegen ihrer schlechten Löslichkeit als Suspensionen, mittels Gummi arabicum verteilt, verabreicht werden, während bei den anderen Alkoholen die Löslichkeit für die erforderliche Dosierung genügte.

Tabelle 3. Methylalkohol (20%ige Lösung).

Dosis ccm/kg	Temperaturen vorher	Temperaturen Minimum	Wirkung	Narkotische Wirkung	Dosis ccm/kg	Temperaturen vorher	Temperaturen Minimum	Wirkung	Narkotische Wirkung
3,0	40,2	40,0	—	—	5,0	40,8	40,4	±	fast S. L.
3,0	39,8	39,4	±	—	5,0	40,0	39,4	(+)	hinten schlapp
3,0	39,6	39,2	±	still sitzend					
4,0	40,2	39,8	±	„ „	6,0	40,4	39,2	+	dasselbe
4,0	40,1	39,6	(+)	fast S. L.	6,0	40,5	39,7	(+)	„
4,0	40,0	39,3	(+)	torkelig	6,0	40,4	39,2	+	volle S. L.
4,0	40,7	41,0	—	schlapp	6,0	40,6	39,6	+	fast S. L.
4,0	40,1	39,0	+	torkelig	7,5	40,5	39,3	+	
5,0	41,0	40,4	(+)	fast S. L.	7,0	40,8	38,6	+	volle S. L.
5,0	40,2	39,8	±	hinten schlapp	7,0	40,4	37,2	++	
					9,0	41,0	39,0	++	
5,0	40,2	40,2	—	still					

Temperatursenkende Dosis: 6,0 ccm/kg.
Seitenlage-Dosis: 7,5 ccm/kg.

Tabelle 4. Äthylalkohol (20%ige Lösung).

Dosis ccm/kg	Temperaturen vorher	Temperaturen Minimum	Wirkung	Narkotische Wirkung	Dosis ccm/kg	Temperaturen vorher	Temperaturen Minimum	Wirkung	Narkotische Wirkung
2,0	40,2	39,6	(+)	still sitzend	4,0	40,7	39,1	+	fast S. L.
2,0	40,0	39,6	±		4,0	40,0	38,6	+	
2,0	40,5	39,8	(+)		4,0	40,4	40,0	±	schlapp
2,0	40,4	40,8	−	schlapp	4,0	40,7	39,0	+	hinten schlapp
3,0	40,3	39,6	(+)	hinten schlapp	5,0	40,1	38,2	++	
3,0	40,9	39,7	+	fast S. L.	5,0	40,1	39,6	(+)	volle S. L.
3,0	40,9	39,6	+	schlapp	5,0	40,5	38,8	+!	
3,0	39,8	39,4	±	fast S. L.	5,0	40,6	38,8	+!	
3,0	40,1	39,3	(+)	hinten schlapp	5,0	39,6	36,0	++	
4,0	40,6	40,0	(+)	dasselbe					

Temperatursenkende Dosis: 3—4 ccm/kg.
Seitenlage-Dosis: 5 ccm/kg.

Tabelle 5. n-Propylalkohol (20%ige Lösung).

Dosis ccm/kg	Temperaturen vorher	Temperaturen Minimum	Wirkung	Narkotische Wirkung	Dosis ccm/kg	Temperaturen vorher	Temperaturen Minimum	Wirkung	Narkotische Wirkung
1,0	41,0	40,4	(+)	still sitzend	2,0	39,4	37,6	++	hinten schlapp
1,0	41,0	40,2	(+)						
1,0	40,2	39,8	±		2,0	40,8	39,4	+	hinten S. L.
1,0	40,5	40,2	±		2,0	40,4	40,0	±	torkelig
1,0	41,2	40,5	(+)		2,0	41,0	40,0	+	
1,5	41,0	40,4	(+)	−	2,5	40,0	39,0	+	hinten schlapp
1,5	40,5	40,8	−	−					
1,5	40,1	39,4	(+)	−	2,5	40,3	37,6	++	hinten S. L.
1,5	40,6	39,4	+	−	2,5	40,4	38,4	++	torkelig
1,5	40,2	40,6	−	−	2,5	40,8	39,2	+	
1,5	40,0	38,4	+	stumpf	2,5	40,2	39,2	+	stumpf
2,0	40,6	40,0	(+)	still sitzend	3,0	40,8	37,4	+++	volle S. L.
					3,0	39,8	36,2	+++	

Temperatursenkende Dosis: 1,5—2,0 ccm/kg.
Seitenlage-Dosis: 3,0 ccm/kg.

Die Befunde dieser Versuchsreihen zeigen, daß auch für die Temperatursenkung die Wirksamkeit der Alkohole in der homologen Reihe mit Verlängerung der C-Kette ansteigt. Auch hier ist das Verhältnis aber keineswegs durch die obenerwähnte Potenzenreihe gekennzeichnet. Der n-Amylalkohol zeigt sogar eine relativ geringe Wirksamkeit; ebenso wie der Fuselalkohol. Es mag dabei vielleicht an eine gewisse Resorptionsverzögerung durch die Beimischung von Gummi arabicum zu der feintropfigen Suspension dieser Alkohole als Ursache gedacht werden. Andererseits lag aber das Maximum der temperatursenkenden Wirkung keineswegs später, was gegen diese Deutungsmöglichkeit spricht.

Tabelle 6. n-Amylalkohol (10%ig in 5%iger Lösung von Gummi arabicum).

Dosis ccm/kg	Temperaturen vorher	Temperaturen Minimum	Wirkung	Narkotische Wirkung	Dosis ccm/kg	Temperaturen vorher	Temperaturen Minimum	Wirkung	Narkotische Wirkung
0,5	40,2	39,8	±	—	1,0	41,0	40,7	±	—
0,6	41,2	41,1	—		1,0	38,8	36,6	++	hinten
0,6	40,6	40,2	±	still sitzend	1,0	40,5	39,6	++	schlapp
0,6	40,6	40,6			1,0	40,4	40,6		still sitzend
0,6	40,1	40,1	—	—	1,0	40,8	40,6	±	—
0,75	40,6	39,8	(+)	—	1,5	40,6	37,8	++	
0,75	40,0	40,0	—	hinten	1,5	40,4	35,2	+++	volle S. L.
0,75	40,4	39,8	(+)	schlapp	1,5	40,2	37,7	++	
0,75	40,6	40,5	—	still sitzend	1,5	40,6	40,4	—	—
0,75	40,2	40,0			1,5	38,6	34,4	+−+	volle S. L.
0,75	40,3	40,3	—	—	1,5	40,5	39,8	(+)	sitzt still
1,0	41,0	39,7	+	fast volle S. L.					

Temperatursenkende Dosis: 1,0—1,5 ccm/kg.
Seitenlage-Dosis: 1,5 ccm/kg.

Tabelle 7. Fuselalkohol (10—20%ig in 5%iger Lösung von Gummi arabicum).

Dosis ccm/kg	Temperaturen vorher	Temperaturen Minimum	Wirkung	Narkotische Wirkung	Dosis ccm/kg	Temperaturen vorher	Temperaturen Minimum	Wirkung	Narkotische Wirkung
0,7	40,4	40,6	—	—	2,0	41,0	41,3	—	stumpf
0,7	40,6	40,2	∓	stumpf	2,0	38,7	37,6	+	torkelig
0,7	40,6	40,6	—	—	2,0	40,4	41,2	—	—
0,7	40,8	40,6	±	still	2,0	40,4	39,0	+	torkelig
1,0	40,7	39,8	(+)	—	2,0	40,4	33,6	+++	volle S. L.
1,0	41,1	41,2	—	—	2,5	39,9	36,7	++	
1,0	40,8	40,2	(+)	stumpf	2,5	40,8	39,6	+	hinten schlapp
1,0	40,2	39,4	(+)	schlapp					
1,0	40,8	40,4	±		2,5	40,2	38,6	+	fast volle S. L.
1,5	40,6	39,2	+	—					
1,5	40,2	40,0	—	stumpf	2,5	40,8	37,2	+++	
1,5	39,9	38,6	+	still, ohne Lähmung	3,0	40,4	35,0	+++	volle S. L.
					3,0	40,0	36,0	+++	
1,5	40,1	38,4	+	fast S. L.	4,0	40,1	33,6	+++	
1,5	40,4	37,8	++	volle S. L.					

Temperatursenkende Dosis: 1,5—2,0 ccm/kg.
Seitenlage-Dosis: 2,5 ccm/kg.

Die Dosen, welche einen Seitenlagezustand auslösten, lagen bei den verschiedenen Alkoholen 20—50% oberhalb der temperatursenkenden Grenzdosis. Spezifische Unterschiede bestanden hier nicht. Diese Nachbarschaft der narkotischen Dosis deutet darauf hin, daß die Temperatursenkung vielleicht auf einer narkotischen Wirkung am Wärmeregulationszentrum beruhen kann.

Tabelle 8. Amylenhydrat (10%ige Lösung).

Dosis ccm/kg	Temperaturen vorher	Temperaturen Minimum	Wirkung	Narkotische Wirkung	Dosis ccm/kg	Temperaturen vorher	Temperaturen Minimum	Wirkung	Narkotische Wirkung
0,30	40,3	40,1	—	still	0,50	40,4	39,7	(+)	fast S. L.
0,30	40,4	39,8	(+)	benommen	0,50	40,0	39,5	(+)	hinten S. L.
0,30	40,8	40,4	±	—	0,50	40,4	39,5	+	fast S. L.
0,30	40,8	40,2	(+)	torkelig	0,60	39,8	38,2	+	
0,40	41,0	39,8	+	hinten	0,60	40,3	39,8	(+)	
				schlapp	0,60	40,0	39,4	(+)	
0,40	40,0	38,2	+	hinten S. L.	0,60	40,6	38,2	++	volle S. L.
0,40	40,0	39,4	(+)	benommen	0,75	40,3	39,4	(+)	
0,40	40,2	38,4	+	fast S. L.	0,75	40,0	37,8	++	
0,50	40,8	38,8	++	hinten	0,75	40,8	38,2	++	hinten S. L.
				schlapp	0,75	41,1	38,9	++	volle S. L.

Temperatursenkende Dosis: 0,40—0,50 ccm/kg.
Seitenlage-Dosis: 0,60 ccm/kg.

III. Erörterung der Ergebnisse.

Die vergleichende Untersuchung der Wirksamkeit der verschiedenen Alkohole auf die Adrenalinempfindlichkeit der Gefäße und die Wärmeregulation hat gewisse quantitative Unterschiede ergeben, die bisher nur im Hinblick auf das Verhalten in der homologen Reihe der primären Alkohole und für verschiedene Amylalkohole besprochen wurde. Es soll nunmehr auch die Frage berührt werden, ob die periphere Gefäßwirksamkeit der Alkohole für die Temperatursenkung eine ursächliche Bedeutung besitzen kann und ob hier vielleicht eine Sonderstellung für einzelne Alkohole vorliegt.

Um solche Beziehungen aus den erzielten Befunden schnell ablesen zu können, sind die Endergebnisse noch einmal kurz in Tabelle 9 zusammengefaßt. Darin sind auch Angaben über die narkotische Grenzdosis in der letzten Spalte zum Vergleich mit aufgenommen worden.

Die Betrachtung dieser Zahlenwerte läßt sofort erkennen, daß die Gefäßwirksamkeit von n-Amylalkohol und Fuselöl völlig aus der Reihe fällt, während die Zahlenwerte für die Gefäß- und Temperaturwirksamkeit bei den anderen Alkoholen ein nahezu paralleles Verhalten

Tabelle 9. Wirksame Alkoholgrenzdosen.

Alkohole	Gefäßlähmende Konzentrationen %	Temperatnrsenkung ccm/kg	Narkotische Dosis ccm/kg
Methylalkohol	7—9	6,0	7,5
Äthylalkohol	2—3	3—4	5,0
n-Propylalkohol	2—3	1,5—2,0	3,0
n-Amylalkohol	0,15—0,2	1,0—1,5	1,5
Fuselalkohol	0,2 —0,3	1,5—2,0	2,5
Amylenhydrat	0,7 —1,0	0,4—0,5	0,6

aufweisen. Die wirksamen Konzentrationen beider Amylalkohole liegen etwa eine Zehnerpotenz niedriger als zu erwarten. Diese Sonderstellung der Amylalkohole besitzt vermutlich eine Bedeutung für Nebenwirkungen beim Genuß von fuselhaltigen Alkoholgetränken*. Jedenfalls wäre für diese Stoffe wesentlich eher an eine Gefäßschädigung in dem einleitend erörterten Sinne zu denken. Wenn man für die geprüften Amylalkohole die im Organismus möglichen Alkoholkonzentrationen nach Gaben von narkotischen Dosen berechnet unter der Zugrundelegung von etwa 80 ccm Blut pro kg beim Kaninchen, so könnte maximal eine Konzentration von 2—3% errechnet werden. Bei Verteilung auf den gesamten Organismus wäre immer noch eine minimale Konzentration von 0,15—0,25% zu berechnen. Das bedeutet, daß bei dieser Dosierung sicherlich wenigstens für eine gewisse Zeit gefäßschädigende Konzentrationen im Blute erreicht werden. Für die anderen Alkohole ist diese Wahrscheinlichkeit wesentlich geringer. Nach Angaben in der Literatur über Blutalkoholkonzentrationen bei Betrunkenen werden Werte von 0,3% im gelinden Rausch, von 0,45 bis 0,6% im tiefen Rausch und 0,7—1,0% bei Bewußtlosigkeit erreicht (vgl. Kochmann in Heffters Hdb. exper. Pharm., Erg.-Werk II, S. 202). Diese Konzentrationen können nach den vorliegenden Ermittlungen an Kaninchen aber noch nicht sicher die Gefäße lähmen. Freilich sind die Dosen, die im Tierversuch die Temperatur zu senken vermögen, wohl auch größer als die für die Rauscherzeugung am Menschen erforderlichen. Es besteht nach den in Tabelle 9 festgelegten Dosen und Konzentrationen jedenfalls die Möglichkeit, daß die direkte Alkoholwirkung auf die Gefäße bei allen geprüften Stoffen vielleicht doch in Betracht kommen kann, ganz vorwiegend jedoch bei den beiden Amylalkoholen.

Im Zusammenhang mit diesen Feststellungen schien es nun von Interesse zu wissen, ob auch bei der Wirkung anderer Antipyretica wie Pyramidon und Chinin eine Mitbeteiligung der peripheren Gefäße in Betracht kommt. Lendle und Puhlmann[12] haben neuerdings für diese beiden Stoffe auch eine hohe gefäßlähmende Wirksamkeit nachgewiesen. Ferner konnte für das Pyramidon mit dem oben beschriebenen Verfahren als temperatursenkende Grenzdosis 0,03—0,04 g/kg Kaninchen ermittelt werden (unveröffentlicht). Aus der Literatur läßt sich für Chinin. hydrochlor. eine Grenzdosis von 0,1—0,2 g pro Kaninchen entnehmen (vgl. Heffters Hdb. exper. Pharm. II, 1, S. 81). Eine Zusammenstellung dieser Werte läßt erkennen, daß für das Pyramidon etwa das gleiche Verhältnis zwischen temperatursenkender Dosis und gefäßlähmender Konzentration besteht wie bei den Alkoholen. Hier dürfte die Mitbeteiligung einer peri-

* Anmerkung: Bei dem im Nachlauf der Destillation gewonnenen „Fuselöl" handelt es sich nach Rost (Hdb. d. Ernähr., S. 1056) vorwiegend um ein Gemisch der beiden isomeren primären Gärungsamylalkohole. Beimengungen von diesen Fuselalkoholen werden im allgemeinen für schädlich erachtet, wenn sie mehr als 0,4% ausmachen, nach Lewin sogar schon mit 0,1% [vgl. Ehrlich, F.: Ullmanns Enzyklop. techn. Chem. **1**, 456 (1928)].

pheren Gefäßwirksamkeit an der Temperatursenkung auch nicht genügend sicher sein. Dagegen ist dies beim Chinin mit seiner auffallend hohen peripheren Gefäßwirkung, die bisher wenig Beachtung gefunden hatte, wohl sicher der Fall. Nach Umrechnung der temperatursenkenden Dosis auf die Blutmenge oder auf die gesamte Masse des Körpers würden etwa Chininkonzentrationen von maximal 0,25 bzw. 0,02% zu erwarten sein, während die gefäßlähmende Konzentration schon mit 0,001% erreicht wird.

Tabelle 10.

Antipyreticum	Gefäßlähmende Konzentration %	Temperatursenkung g/kg
Pyramidon	0,03 —0,10	0,03—0,04
Chinin. hydr.	0,0005—0,001	0,1 —0.20

Zusammenfassung.

Die periphere Gefäßwirkung und die temperatursenkende Wirkung verschiedener Alkohole wurde am Kaninchen vergleichend geprüft.

Die Alkohole wirkten etwa in den gleichen Konzentrationen erweiternd auf die Ohrgefäße und auf die Adrenalinempfindlichkeit dieses Präparates vermindernd. Die Wirksamkeit nahm dabei in der homologen Reihe mit Verlängerung der C-Kette zu, allerdings nicht im gleichen Verhältnis fortschreitend. Der n-Amylalkohol und das Fuselöl waren etwa 10—20mal stärker wirksam als der Propylalkohol.

Auch die temperatursenkende Wirkung nahm mit Verlängerung der C-Kette zu. Die Amylalkohole waren hierbei jedoch nur wenig stärker wirksam als der Propylalkohol. Die Grenzdosen für die Temperatursenkung waren leicht narkotische Dosen.

Aus der vergleichenden Betrachtung der Grenzdosen und Konzentrationen ergibt sich der Schluß, daß die Amylalkohole anscheinend eine stärkere Wirkung auf die peripheren Gefäße besitzen, die vermutlich ursächlich an der Temperatursenkung beteiligt ist. Bei den anderen Alkoholen ist die gefäßlähmende Wirkung auch schon im Bereich der temperatursenkenden Dosen zu berücksichtigen, sie dürfte hierfür aber nicht so bedeutsam sein.

Eine weitere Vergleichung mit dem Verhalten der Antipyretica Chinin und Pyramidon ergab, daß das Pyramidon sich ähnlich verhält wie die Alkohole, daß aber bei dem Chinin wahrscheinlich eine starke Gefäßbeteiligung bei der Temperatursenkung eine Rolle spielt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Cholinester aus isolierten Froschherzen ohne Vagusreizung.

Von

Veniamin Runcan, Bukarest.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. Mai 1940.)

Nach der heute allgemein angenommenen Anschauung tritt das Azetylcholin (oder andere cholinergische Stoffe) auf Nervenreizung aus den betreffenden Organen in die Nährflüssigkeit über. Einige Befunde, die ich im Winter 1938/39 bei Arbeiten mit isolierten Froschherzen erhoben habe, scheinen mir jedoch darzutun, daß ein solcher Übertritt grundsätzlich auch ohne Nervenreizung erfolgen kann.

Die Versuche wurden von Mitte Dezember bis Ende Februar an Esculentenherzen durchgeführt. Die äußeren Bedingungen im Berliner Institut waren die gleichen wie in früheren Jahren. Die Frösche stammten aus Baden und kamen unmittelbar nach ihrer Ankunft in einen besonderen Raum, dessen Temperatur einigermaßen mit der winterlichen Außentemperatur übereinstimmte, doch ziemlich konstant gehalten wurde. Bei Beginn jedes Versuches wurden die Herzen der Tiere unmittelbar nach Entnahme aus diesem kühlen Raum im Laboratorium bei einer Temperatur von 20—22° präpariert, anschließend in der Anordnung nach Straub suspendiert.

Als Nährflüssigkeit dienten Tyrode- oder Ringerlösung, die in der Kanüle mit Luft durchperlt wurden. Der Kanüleninhalt betrug stets 1—1½ ccm. Die verwendeten Nährlösungen wurden mehrmals frisch hergestellt; sie hatten folgende Zusammensetzung:

Tyrodelösung: NaCl 6,0, KCl 0,15, $CaCl_2$ 0,15, $MgCl_2$ 0,075, Glykose 0,75, $NaHCO_3$ 0,75, NaH_2PO_4 0,038 ad 1000 ccm Aqua dest. Ringerlösung: NaCl 6,0, $NaHCO_3$ 0,1, $CaCl_2$ 0,1, KCl 0,075 ad 1000 ccm Aqua dest.

An der Kanüle verhielten sich die Herzen verschieden. Nur wenige schlugen von Anfang an mit normalem Rhythmus. Die meisten zeigten eine Bradykardie, die in einzelnen Fällen bis zu 15 Schlägen pro Minute betrug. Im Verlauf von einer halben bis 3 Stunden trat bei den meisten Herzen eine Normalisierung auf, d. h. die Schlagzahl erreichte wieder das normale Maß von 40—50 je Minute.

Zunächst versuchte ich durch häufigeres Auswaschen mit frischer Tyrodelösung das Herz in Gang zu bringen; das war jedoch nicht ohne weiteres möglich. Vielmehr machte ich dabei eine bemerkenswerte Beobachtung. Wechselte ich die Nährlösung erst dann gegen eine frische aus, wenn die Herzen eine Zeitlang geschlagen hatten, so war eine beträchtliche Verbesserung der Herzaktion festzustellen: die Hubhöhe nahm zu, die Frequenz steigerte sich. Abb. 1 zeigt ein Beispiel dieser Verbesserung der Herzschläge durch die frische Tyrodelösung.

Brachte ich dann anschließend wieder die ursprüngliche Lösung in die Kanüle, so trat eine sofortige Verschlechterung der Herzaktion ein.

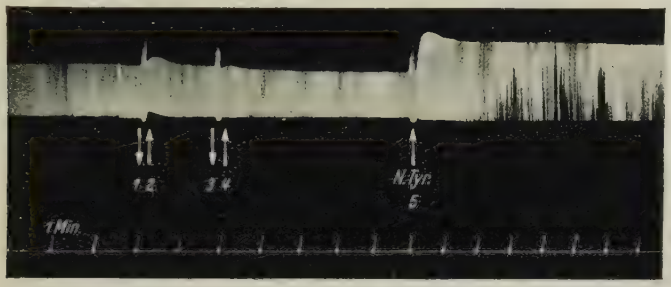


Abb. 1. Froschherz 10 Min. nach der Präparation. Untere Linie: Zeitschreibung 1 Minute. 1—4: zweimalige Entleerung und Zugabe der gleichen Nährlösung. 5: N. Tyr. = Frische Tyrodelösung.

Kontrollversuche zeigten eindeutig, daß dieser Effekt nicht auf den mechanischen Vorgang des Auswaschens zurückzuführen war, sondern daß es sich um eine echte stoffliche Wirkung handeln müsse.

Dieser negativ chrono- und negativ inotrope Effekt der alten, d. h. der dem Herzen nach der Präparation zuerst gebotenen Lösung ließ sich an 45 von 70 Froschherzen (von 65 Esculenten und 5 Temporarien) beobachten, die mit Tyrode- oder Ringerlösung schlugen.

Abb. 2 zeigt die Schläge eines Esculentenherzens nach 6stündigem Schlagen mit derselben Tyrodelösung. Man sieht die bedeutende Verbesserung durch die frische Tyrodelösung sowie die rasch eintretende Verschlechterung nach Zufuhr der alten Lösung. Atropin hat eine Erhöhung der Hubhöhe und der Frequenz zur Folge.

Vielfache Prüfungen sicherten, daß eine fehlerhafte Zusammensetzung der Nährflüssigkeiten nicht die Ursache dieser Erscheinung war; so lag es nahe, an Azetylcholin oder azetylcholinähnliche Stoffe zu denken. Daher habe ich das Verhalten dieser Herzen gegenüber Atropin geprüft. Brachte ich in ein Froschherz mit langsamem Anfangsrhythmus Atropin ($1:10^6$), so zeigte sich regelmäßig unmittelbar darauf eine Zunahme der Frequenz und der Hubhöhe. Ein Austausch dieser Flüssigkeit gegen eine frische Nährlösung hatte dann keinerlei Wirkung mehr. Eine weitere Verbesserung trat nicht mehr ein.

Wenn es sich um eine echte stoffliche Wirkung handelte, so mußte sich der oben beschriebene Effekt auch bei Übertragung auf ein zweites normalschlagendes Froschherz äußern. Ich habe deshalb die Nährflüssigkeit von Herzen, die mehrere Stunden mit langsamem Rhythmus geschlagen

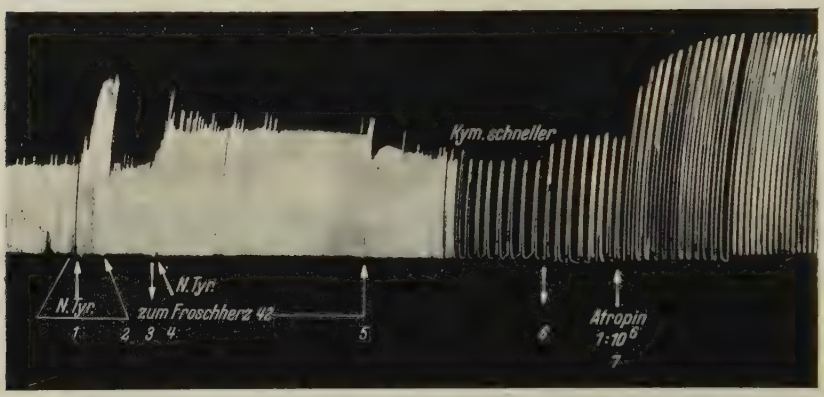


Abb. 2. Esculentenherz. Links zunächst Hubhöhe nach 6stündiger Arbeit mit der gleichen Tyrodelösung. Beim ersten Pfeil wird frische Tyrodelösung gegeben, beim zweiten Pfeil wieder die alte Lösung. Darauf nochmals frische Tyrodelösung (die danach einem zweiten Herzen Nr. 42, vgl. Abb. 3, geboten wurde). Beim fünften Pfeil wieder alte Tyrodelösung, dann bei schnellerem Gang des Kymographions Atropin in Tyrode (1 : 1 Million) (Pfeil 7).

Abb. 3. Froschherz erhält kurze Zeit nach der Präparation die Lösung geboten, mit der ein anderes Herz etwa 10 Minuten geschlagen hatte (vgl. Abb. 2): völliger Stillstand. Nach Auswaschen und Angebot frischer Tyrodelösung geringfügige Erholung; Zusatz von Atropin führt zu völliger Erholung, ja zu besserer Leistung als anfangs.

hatten, auf normalschlagende Testherzen übertragen. Die Lösung bewirkte eine Verminderung der Hubhöhe und eine ausgesprochene Verlangsamung der Frequenz. In einigen Fällen ist es zu einem völligen Stillstand des Testherzens gekommen, wie aus dem Beispiel auf Abb. 3 zu sehen ist. Am atropinisierten Testherzen dagegen blieb eine derartige Wirkung aus.

Weiter prüfte ich die Wirkung dieser aus der Herzkanüle entnommenen Nährflüssigkeiten am eserinierten Blutegelmuskel.

Die Muskelstreifen wurden stets 3 Stunden bis zu vollkommener Erschlaffung in einem Bade mit Tyrodelösung suspendiert. Dann wurde

der Badinhalt durch Tyrodelösung mit 1 mg% Physostigmin ersetzt und 15 Minuten später die Nährflüssigkeit des Herzens hinzugefügt. Der Inhalt des Bades betrug 10 ccm, die Verdünnung der Nährflüssigkeit also $^1/_6$—$^1/_{10}$.

In einem Drittel der Fälle bekam ich eine Kontraktion des Blutegelmuskels. In den übrigen Fällen war kein Effekt zu beobachten. Bemerkenswert ist dabei folgendes, daß die Nährflüssigkeiten, die an Froschtestherzen eine ausgeprägte Wirkung hervorgerufen hatten, auch am Blutegelmuskel

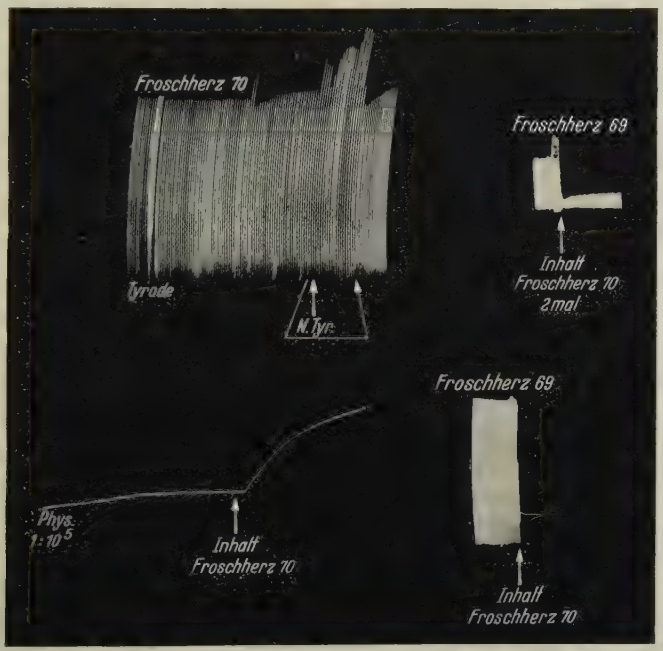


Abb. 4. Links oben das langsam schlagende Ausgangsherz: zwischen den Pfeilen frische Tyrodelösung. Rechts: zweimalige Testierung der „alten" ersten Tyrodelösung aus dem Ausgangsherzen an einem zweiten rasch schlagenden Froschherzen; oben inotrope vagusartige Wirkung, unten Stillstand des Herzens. Links unten Blutegelmuskel unter Physostigmin: bei Zusatz der „alten" Tyrodelösung Kontraktion.

wirksam waren, während die an Froschtestherzen schwach wirksamen Lösungen sich am Blutegelmuskel als unwirksam erwiesen. Das läßt daran denken, daß bei letzteren die Verdünnung zu groß war.

Abb. 4 zeigt an einem eindrucksvollen Beispiel die langsamen Schläge eines Esculentenherzens — 14 pro Minute —, welches 2 Stunden in Tyrode geschlagen hatte. Man sieht die Verbesserung der Schläge durch die frische Tyrodelösung, sowie die erneute Verschlechterung durch die alte Lösung. Die Übertragung dieser letzten Lösung auf ein neu präpariertes und normalschlagendes Froschherz brachte dieses zum Stillstand. Dieselbe „alte" Lösung rief am eserinierten Blutegelmuskel eine Kontraktion hervor.

Eserin selbst hatte keinen Einfluß auf Hubhöhe und Schlagzahl eines mit langsamem Anfangsrhythmus schlagenden Herzens. Doch war die Wirkung einer eserinhaltigen Nährlösung auf den Blutegelmuskel besonders ausgeprägt.

Aus diesen Versuchsergebnissen geht hervor, daß die Nährflüssigkeit der meisten Froschherzen ohne vorherige Vagusreizung nach einiger Zeit cholinergische Eigenschaften gewonnen hatte.

Die Auffälligkeit dieser Befunde erfordert es, die Möglichkeit etwaiger methodischer Fehler auszuschließen. Vor allem wäre daran zu denken, daß der beobachtete negativ ino- und negativ chronotrope Effekt die Folge einer Kaliumwirkung wäre, denn einerseits führt eine Vermehrung des Kaliums in der Nährflüssigkeit unter Umständen zu einem ähnlichen Bild, andererseits könnte man nach den Untersuchungen von Feldberg und Guimarais (1) sowie von Beznák (2) vermuten, daß eine Vermehrung des Kaliums zu einer Freisetzung des Azetylcholins im Froschherzen geführt habe. Die Autoren fanden nämlich bei Durchströmung der Speicheldrüse sowie Behandlung des isolierten Froschherzens mit kaliumreicher Ringerlösung eine Freisetzung von Azetylcholin.

Diesen Fehler vermag ich jedoch dadurch auszuschließen, daß ich mehrmals die von mir benutzten Nährlösungen unter sorgfältiger Wägung der gebrauchten Salze neu herstellte, dabei aber stets die gleichen Beobachtungen wiederholen konnte.

Diese Befunde deuten demnach darauf hin, daß die beobachteten Erscheinungen auf einen cholinergischen Stoff in der Nährflüssigkeit zurückzuführen sind, der sich ohne Beteiligung eines Kaliumüberschusses gebildet hat. Für diese Anschauung spricht einmal die Art der Erscheinungen an sich, sodann ihre Übertragbarkeit auf andere Testherzen, weiterhin die Aufhebung des Effekts durch Atropin, endlich die Erzeugung einer Kontraktion an eserinierten Blutegelmuskeln in starker Verdünnung. Es ist also zu folgern, daß dieser Stoff aus dem Froschherzen in die Nährflüssigkeit ausgewandert ist.

Über den Austritt des Azetylcholins nach Nervenreizung liegt eine umfangreiche Literatur vor, die an dieser Stelle nicht besprochen werden soll. Charakteristisch für meine Befunde ist aber die Tatsache, daß das Auftreten eines derartigen Stoffes in der Nährflüssigkeit ohne Nervenreizung zu beobachten war.

Aus der Literatur seien einige Befunde erwähnt, die in Beziehung zu den oben beschriebenen Beobachtungen stehen. So beschreibt Asher (3) eine cholinartige Wirkung der Nährflüssigkeit von Froschherzen, die durch äußeren Unterdruck etwas nach der Diastole hin gedehnt und zu einer niedrigen Frequenz gebracht wurden. Ferner konnten Feldberg und Kwiatkowski (4) in der Durchströmungsflüssigkeit eines isolierten Katzendünndarmes, ohne Nervenreizung und auch ohne Eserin, eine kleine Menge

Azetylcholin nachweisen. Die Diffusion von Azetylcholin aus verschiedenen Organen unter der Einwirkung eines Kaliumüberschusses gehört auch in diesen Zusammenhang, wie sie u. a. in den bereits erwähnten Arbeiten von Feldberg und Guimarais, sowie von Beznák gezeigt wurde.

Man darf also zusammenfassend sagen, daß Nervenreizung nur eine der Bedingungen ist, unter denen Azetylcholin in der Nährflüssigkeit isolierter Organe auftritt. Nach der heute geltenden Auffassung wird das freigesetzte Azetylcholin rasch durch Esterase zerstört, die sich im Blute und im Gewebe findet. Bekanntlich ist die Verwendung von esterasehemmenden Stoffen (wie Eserin) in vielen Fällen ein nützlicher oder selbst unentbehrlicher Kunstgriff, damit der Nachweis des Azetylcholins gelingt.

Unter den bisher geprüften Tierarten ist der Frosch — im Blute und Gewebe — relativ arm an Cholinesterase. Die Speisung mit einer künstlichen Salzlösung dürfte weiterhin zu ihrer Verminderung im Gewebe beitragen.

Bei dem heutigen Stande unseres Wissens ist wohl die Vorstellung erlaubt, daß in solchen Organen, die, wie das Herz, mit nervösen Elementen cholinergischen Charakters ausgestattet sind, dauernd ein gewisser „Tonus" dieser Gebilde besteht, der mit Abscheidung einer bestimmten Menge Cholinester je Zeiteinheit einhergeht. Normalerweise wird jedoch diese Menge Cholinester durch die Cholinesterase im gleichen Tempo zerstört, wie sie entsteht. Es genügt aber eine Störung dieses Gleichgewichtes zwischen Bildung und Zerstörung des Cholinesters, um solche Mengen des Esters bestehen zu lassen, daß sie sich an der Funktion des Organs bemerkbar machen und weiterhin diffundieren können. Nicht nur erhöhte Bildung (wie bei Nervenreizung), sondern auch verminderte Zerstörung (wie bei Eserinwirkung) müßten also theoretisch jede für sich allein ausreichen, um einen Cholinestereffekt hervortreten zu lassen.

Aus solchen Überlegungen könnte verständlich werden, daß verschiedenartige Ursache — auch über Nervenreizung und Eserinzusatz hinaus — zu dem gleichen Erscheinungsbilde führen können. Welche besondere Ursache in diesem Sinne bei unseren Froschherzen beteiligt war, vermag ich nicht anzugeben. Da es sich aber um Erscheinungen handelt, die mit einer immer und überall gebrauchten einfachen Methodik nur während einer bestimmten Zeitperiode beobachtet wurden, möchte ich eine meteorologische Einwirkung, vielleicht auf die Permeabilität gewisser Gewebselemente, als möglich ansehen.

In jüngster Zeit hat ja Zain (5) über den Zusammenhang der chemobiologischen Zusammensetzung der Froschherzen und ihre jahreszeitlich schwankende Arbeit berichtet. Der Winter 1938/39 war im ganzen relativ warm, wenn auch für die Sinnesorgane des Menschen nicht so abweichend, wie die geschilderte Reaktionsweise der Froschherzen. Natürlich wäre es auch denkbar, daß ein besonderer meteorologischer Einfluß sich indirekt,

d. h. auf dem Umwege über die Ernährung, insonderheit mit Vitaminen geltend machte. So ist bekannt, daß Unterernährung und B_1-Avitaminose eine Bradykardie hervorrufen.

Zusammenfassung.

Es wird über cholinartige Wirkungen der Nährflüssigkeit von isolierten Froschherzen ohne Vagusreizung berichtet, die nach den biologischen Prüfungen dem Azetylcholin oder nah verwandten Cholinestern zuzuschreiben waren.

Die Möglichkeit einer Auswanderung cholinergischer Stoffe aus Organen, sowie die besonderen Umstände, unter denen eine solche Auswanderung möglich scheint, werden erörtert.

Literatur.

1) Feldberg u. Guimarais, J. of Physiol. (Brit.) **86**, 306 (1936). — 2) Beznák: A. v.: ebenda **82**, 129 (1934). — 3) Asher, Z. Biol. **92**, 263 (1932). — 4) Feldberg u. Kwiatkoswki, Pflügers Arch. **234**, 333 (1934). — 5) Zain, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 605 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster i. W. (Direktor: Prof. Dr. L. Lendle).

Untersuchungen über die Glykosidbindung des Herzens unter pathophysiologischen Bedingungen.

Von

H. Genuit und H. Wagner.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 3. Juni 1940.)

Von klinischer Seite ist oft die Erfahrung gemacht worden, daß das kranke Herz eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber den Digitaliskörpern aufweist. Diese Tatsache hat man auf verschiedene Weise zu erklären versucht.

So nimmt Edens [1] an, daß bei Dekompensation der Herzmuskel infolge der schlechteren Coronardurchblutung und des damit verbundenen Sauerstoffmangels und der CO_2-Überladung in einen chemisch veränderten Zustand gelangt. In diesem Zustand soll er auf die gleiche Dosis stärker ansprechen als ein gesunder Herzmuskel. Auch die gelegentlichen toxischen Nebenwirkungen am Beginn einer Strophanthin- oder Digitalisbehandlung (Irregularität, Bigeminus usw.) wurden von Edens als Ausdruck der Überempfindlichkeit der geschädigten Herzen betrachtet. Es handelt sich dabei nicht um kumulative Vergiftungserscheinungen. Daher sollen nach Edens diese Nebenwirkungen bei fortgesetzter Behandlung von selbst verschwinden, weil infolge der „mittelbaren" Digitaliswirkung auf die Durchblutungs- und Ernährungsbedingungen des Herzens die Voraussetzungen für die Überempfindlichkeit verschwinden.

Eine andere Erklärung für die hohe Empfindlichkeit des kranken Herzens gibt Weese [2]. Weese verzichtet auf die Annahme einer Änderung des Chemismus des Herzmuskels. Er nimmt vielmehr an, daß das hypertrophische und dilatierte Herz mit einer größeren Adsorptionsfläche auch mehr Glykosid bindet. Die Möglichkeit einer Mehrbindung wird noch dadurch begünstigt, daß infolge des durch die Stauung verlangsamten Coronarkreislaufes auch die Adsorptionszeit verlängert ist. Dieser rein mechanistischen Möglichkeit der Erklärung stehen jedoch einige experimentelle Erfahrungen von Dieckhoff [3] gegenüber. An hypertrophierten Katzenherzen — die Hypertrophie mit einer Zunahme der Muskelmasse um etwa 30% wurde durch eine künstlich gesetzte Aorteninsuffizienz

[1] Edens: Krankh. d. Herzens u. d. Gefäße. Berlin, Jul. Springer, 1929. — [2] Weese, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **141**, 346f. (1929). — [3] Dieckhoff, J.: Ebenda **182**, 285 (1936).

hervorgerufen — konnte Dieckhoff feststellen, daß die Digitoxin- und Strophanthinempfindlichkeit sowohl am Ganztier als auch am Herz-Lungenpräparat bedeutend gesteigert war. Diese Empfindlichkeitssteigerung des hypertrophen Herzens beruhte aber nicht auf einer Mehrbindung des Glykosids entsprechend der Vergrößerung der Adsorptionsfläche, sondern Dieckhoff fand im Gegenteil die Dos. let. min. hierbei um etwa 30—40% vermindert gegenüber normalen Herzen. Und zwar ging die Empfindlichkeitssteigerung noch weit über die prozentuale Gewichtszunahme des Herzens hinaus.

Weiterhin besteht die Möglichkeit, daß am dekompensierten Herzen Membranschädigungen vorliegen, die eine verstärkte Bindung der Digitalisglykoside an das Muskeleiweiß verursachen könnten. Wie Heim[4] gezeigt hat, wird nämlich die toxische und therapeutische Wirkung von Strophanthin auf das isolierte Froschherz durch Harnstoff, der eine Auflockerung der Zellgrenzflächen hervorrufen soll, bedeutend verstärkt. Es ist in seinen Versuchen allerdings die Bindungsgröße selbst nicht ermittelt worden.

Mit einer für das Studium der Bindung von Pharmaka in durchströmten isolierten Organen entwickelten Apparatur[5] waren die technischen Voraussetzungen gegeben, die Bindung von Digitalisglykosiden auch unter unphysiologischen Bedingungen zu prüfen, die den Verhältnissen einer unzureichenden Herzdurchblutung in viro entsprechen. Die Bestimmung der gebundenen Menge erfolgte dabei nach dem Prinzip des Passageversuchs (Straub[6]). Dabei wird das erste Herz durch eine sicher zum Stillstand führende Menge des Glykosids vergiftet. Der in der Durchströmungsflüssigkeit etwa noch vorhandene Glykosidrest wird dadurch festgestellt, daß, nachdem das erste Herz vergiftet ist, die Flüssigkeit auf ein zweites als Test dienendes Herz übertragen wird und dann kleine Zusätze desselben Pharmakons gegeben werden, bis auch dieses Herz eben zum systolischen Stillstand kommt. Aus den so gewonnenen Daten kann die vom ersten Herzen gebundene Menge errechnet werden, wenn in einer besonderen Versuchsreihe vorher die mittlere Bindung pro g Herz unter Normalbedingungen bestimmt wurde.

Mit diesem Verfahren haben Genuit und Eschbach[7] früher am Meerschweinchenherz und Genuit[5] am Rattenherzen die Bindungsgröße von Digitoxin und Strophanthin unter physiologischen Bedingungen ermittelt. Die für unsere Fragestellung am Herzen zu setzenden Schädigungen mußten nun zwei Bedingungen erfüllen. Erstens mußten sie reversibel sein, weil ja das zweite Herz nach Übertragung der Glykosidlösung aus dem ersten Herzen als Testobjekt unter normalen Bedingungen arbeiten muß, und zweitens sollten es möglichst solche Schädigungen sein, die auch

---

[4] Heim, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 586 (1938). — [5] Genuit, H.: Ebenda **188**, 285 (1937). — [6] Straub, W.: Biochem. Z. **28**, 392 (1910). — [7] Genuit, H., u. W. Eschbach: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 302 (1937).

am menschlichen Kreislauf unter pathophysiologischen Bedingungen (Stauung oder mangelhafte Durchblutung) eine Rolle spielen können. Als solche kamen in Frage Sauerstoffmangel und CO_2-Überladung, die ja ohne weiteres dadurch rückgängig zu machen sind, daß man beim zweiten Herzen die Durchströmungsflüssigkeit wieder mit einem optimalen Gasgemisch belüftet. Ferner eine Störung des Ionengleichgewichts, die durch nachträgliche Zugabe der weggelassenen Ionen — in unseren Versuchen Calcium — ausgeglichen wurde. Als letztes wurde ein experimentell durch Pilocarpin erzeugtes Überwiegen des Vagustonus geprüft. Bei der Übertragung auf das Testherz wurde die Pilocarpinwirkung durch Zugabe von Atropin in entsprechender Dosis aufgehoben.

Versuchsanordnung.

Die früher für die Bestimmung der Bindungsgröße von Giften bei Durchströmung isolierter Herzen genauer beschriebene Apparatur [5] war in einigen Teilen abgeändert worden, um sie einerseits noch handlicher zu gestalten und um andererseits die bei der Sättigung der Durchströmungsflüssigkeit mit den verschiedenen Gasgemischen auftretende Schaumbildung zu verhindern.

Gerade der letztere Punkt war sehr wichtig, da im Interesse der Genauigkeit die zirkulierende Flüssigkeitsmenge verkleinert worden war, und außerdem für diese Versuche die wesentlich größeren Herzen von Kaninchen gebraucht wurden. Dadurch wurden die im Laufe des Versuchs aus dem Herzen ausgewaschenen Eiweißkörper in der durchströmenden Flüssigkeit nach kurzer Zeit verhältnismäßig stark angereichert. Wenn nun diese Lösung mit O_2-Bläschen durchperlt wurde, so war die Schaumentwicklung nach kurzer Zeit so stark, daß eine Fortführung des Versuchs unmöglich war.

Die Aufgabe wurde so gelöst, daß die zirkulierende Flüssigkeit mittels einer Düse in eine Glasbirne *B* fein verspritzt wurde. (Siehe Abb. III. Die Wärmemäntel um *A* und *B* sind der besseren Übersicht wegen fortgelassen.) Die Birne erhielt einen dauernden Zustrom von Frischgas durch den seitlichen Zufuhrstutzen. Das Gas strömte dann mit der Flüssigkeit, die sich an den Wänden von *B* gesammelt hatte, nach *A* und von dort über ein veränderliches Wasserventil ins Freie. Damit wurde gleichzeitig der Druck über der Flüssigkeit in *A* konstant gehalten. Die Düse *D* wurde aus dem vorderen etwa 1 cm langen Stück einer lang angeschliffenen Kanüle (Nr. 16 oder 17) aus VIIa-Stahl durch Aufbiegen des vordersten Teiles der Spitze gegen die Öffnung hergestellt (siehe vergrößerte Abb. I) und dieses Kanülenstückchen dann in ein dünnes Rohr aus Jenaer Glas eingeschmolzen. Die angegebene Kanülenweite ist für ein Minutenvolumen von 30—50 ccm berechnet. Bei kleineren Mengen ist die Zerstäubung ungenügend und um größere Mengen pro Minute durchzubekommen, müßte ein unverhältnismäßig hoher Druck angewandt werden. Es ist im übrigen schon ein verhältnismäßig hoher Druck (etwa 0,6 bis 0,8 Atm.) notwendig, um die gewünschte Flüssigkeitsmenge zu zerstäuben. Es war daher erforderlich, die früher verwendeten Ventile zu ändern, die einerseits sehr leicht gehen und absolut dicht schließen sollten, andererseits den hohen Druck aushalten mußten. Eine sehr befriedigende Lösung zeigt nebenstehende Abb. II. In ein Glasrohr von 10 mm lichter Weite mit einem kurzen Ansatz von 3 mm weitem Rohr wird mit Hilfe eines etwa 6 mm hohen Stückes aus einem passenden Gummischlauch eine bis auf den inneren Ring mit 8 Löchern abgeschliffene Porzellanfilterscheibe

eingesetzt. Auf der Druckseite dieser Scheibe wird ein Stückchen Kondomgummi befestigt, indem durch das Gummi und das Mittelloch der Filterscheibe ein dünner Faden gezogen wird, auf den zur Fixierung von oben und unten ein kleines Stückchen Gummi aus einer Schlauchwandung geknüpft wird. Die Ventile blieben, wenn nach jedem Versuch ein Tropfen Glycerin daraufgegeben wurde, wochenlang haltbar.

Als Pumpe diente zuerst die schon früher beschriebene kleine Modifikation der Dale-Schuster-Pumpe [5], die hier zur Förderung des größeren Minutenvolumens als

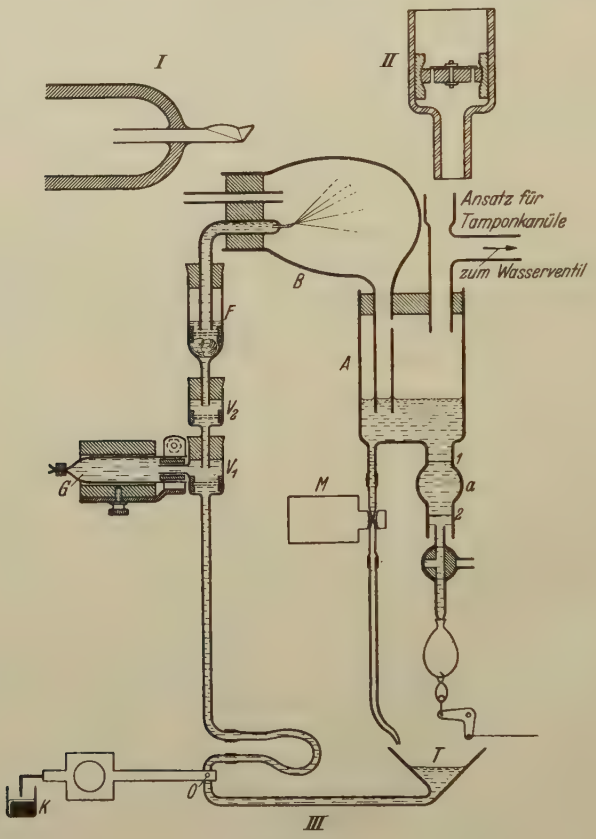


Abb. I bis III.

Doppelkolbenpumpe ausgebildet war. Einfacher und besser haltbar ist die Pumpanordnung in der Form, wie sie in der Abb. III gezeichnet ist. Der Aufbau ist nach der Zeichnung ohne weiteres verständlich. Wichtig ist die Wahl des Gummistückes (*G*) am Seitenansatz des ersten Ventils (*V* 1). Es wurde ein sehr guter grauer Schlauch von 7 mm lichter Weite und 2,5 mm Wandstärke benutzt. Die Länge der komprimierenden Platten (*P*) betrug 30 mm. Die Pumpfrequenz war 160—200 in der Minute. Das Ansaugen wurde durch die Eigenelastizität des Schlauches besorgt. Zwischen Pumpe und Düse mußte, um Verstopfungen der letzteren zu vermeiden, ein kleines Filter eingeschaltet werden, das aus einer Porzellanfilterscheibe und etwas Glaswolle leicht herzustellen ist (siehe Zeichnung). Es kann auch eins der käuflichen Filterstäbchen verwandt werden, jedoch müssen die Poren sehr weit sein. Der freie

Raum im Filter dient als Windkessel. Da die Pumpe immer auf ein größeres Minutenvolumen eingestellt ist als dem Coronarminutenvolumen des Herzens entspricht, wird naturgemäß außer der in den Trichter abtropfenden Flüssigkeit dauernd Luft mit angesaugt, die in der Pumpe schon zu Schaumbildung führt. Um das zu vermeiden, wurde der Trichter um den Punkt 0 drehbar angeordnet. Sinkt der Flüssigkeitsspiegel im Trichter, kippt dieser etwas nach oben und schließt den Kontakt in dem Quecksilbernäpfchen *K*. Dadurch wird der Stromkreis des Magneten *M* unterbrochen. Der Anker des Magneten gibt den Nebenweg von *A* zum Trichter frei, bis der alte Spiegel wieder hergestellt ist.

Das Coronarminutenvolumen wurde nach 2 Verfahren gemessen. Bei der ersten Methode wurde der ausgebauchte Ansatz *a* unten am Gefäß *A* oberhalb der Marke 1 durch eine Tamponkanüle aus Glas abgeschlossen. Diese Tamponkanüle war so konstruiert, daß sie, solange der Tampon aufgeblasen war, den Ansatz *a* bis über den Flüssigkeitsspiegel in *A* nach oben verlängerte. Es floß also so lange nur die im Ansatz *a* und der Tamponkanüle befindliche Flüssigkeit ab. Es wurde jedesmal die Zeit gemessen, in der der Flüssigkeitsspiegel von der Marke 1 nach 2 sank, und daraus das Minutenvolumen berechnet. Die Methode ergab naturgemäß nur Einzelwerte. Um das Minutenvolumen gleich auf der Kurve mitregistrieren zu können, wurde der Kipptrichter mit einer kleinen Zusatzeinrichtung benutzt. Es wurde dabei von folgender Überlegung ausgegangen: Die Flüssigkeit in *A* steht unter konstantem Druck. Wenn die Zeit, die der Magnet *M* geöffnet wird, jedesmal die gleiche ist, wird jeweils die gleiche Flüssigkeitsmenge in den Trichter fließen. Bei fest eingestellter Pumpenleistung wird also das Coronarminutenvolumen als Differenz zwischen Pumpenleistung und der pro Minute durch die Nebenleitung in den Trichter geflossenen Menge bestimmt. Die Zahl der Kontaktschlüsse durch den Trichter wurde auf der Kurve unter der Zeitschreibung mit aufgezeichnet. Die jedesmal gleichlang dauernde Öffnung des Magneten *M* wurde mit Hilfe eines mit konstanter Geschwindigkeit laufenden Grammophonmotors und einer entsprechenden kleinen Schaltvorrichtung bewerkstelligt. Die Methode ergab gut brauchbare Resultate.

Als Versuchsobjekt diente das isolierte Kaninchenherz. Die Herstellung des Präparats erfolgte in ähnlicher Weise, wie dies von Hildebrandt[8] für die Durchströmung am isolierten Meerschweinchenherz und von Genuit[5] für das isolierte Rattenherz beschrieben ist.

In leichter Äther- oder Urethannarkose wurde eine Kanüle in die Vena jugularis eingebunden und mit einer Ringerlösung enthaltenden Mariottschen Flasche verbunden. Dann wurde die Bauchaorta eröffnet und der Zustrom zur jugularis freigegeben. Die Durchströmung dauerte so lange, bis das Tier aufhörte zu atmen (meist 100—150 ccm Flüssigkeit). Sodann wurde nach Eröffnung der Brusthöhle eine Kanüle in die Aorta ascendens eingebunden, das Herz herausgelöst und sofort an die Apparatur angeschlossen. In späteren Versuchen zogen wir die Urethannarkose der Äthernarkose vor, weil dabei das Exzitationsstadium fehlt. Die Präparate waren auch dabei in nahezu 100% gut. Nach Beendigung eines jeden Versuchs wurde das Herz von den anhängenden Gewebsteilen befreit, kurz zwischen Fließpapier getrocknet und gewogen.

Als Durchströmungsflüssigkeit diente Ringerlösung folgender Zusammensetzung: NaCl 0,84%, $CaCl_2$ 0,021%, KCl 0,021%, $NaHCO_3$ 0,1%, Dextrose 0,1%. Sie wurde vor der Einfüllung in das System mit O_2 gesättigt und in dem beschriebenen Oxygenerator fortlaufend mit O_2 beschickt. Dem O_2 waren 5% CO_2 beigemischt, damit die p_H-Verhältnisse der Ringerlösung nicht durch Austreibung von

---

[8] Hildebrandt, F.: Pflügers Arch. **202**, 299 (1924).

CO_2 aus dem Bicarbonat verändert werden konnten. Kontrollversuche ergaben, daß auch bei langdauernder Durchströmung die p_H-Werte um 7,5 konstant blieben. Die Pufferkapazität war ausreichend.

Da bei dieser Methode im Verhältnis zu den Herzen kleinere Durchströmungsvolumina verwendet wurden als in den früheren Arbeiten, führten wir Kontrollversuche ohne Glykosidzusatz aus. Es zeigte sich, daß die Lebensdauer der Präparate völlig ausreichend war. Bei mehrstundenlanger Zirkulation nahm die Kontraktionshöhe meist nur sehr wenig ab.

Für die Glykosidbindungsversuche wurde in allen Fällen g-Strophanthin verwendet, welches bei genügender Wasserlöslichkeit keinen Alkoholzusatz benötigt, wie z. B. das Digitoxin und welches auch genügend stabil ist.

I. Passageversuche unter Normalbedingungen.

Wie eingangs schon kurz erläutert ist, wurde die jeweils gebundene Menge des Pharmakons mit Hilfe von Passageversuchen bestimmt. Dabei wurden zum Teil auch Versuche mit höherem Angebot gemacht, bei denen mit derselben Lösung nacheinander zwei, mitunter auch drei Herzen voll zum systolischen Stillstand gebracht werden konnten. Dabei wurde als Test für die schließlich noch in der Lösung verbliebene Menge des Pharmakons ein drittes bzw. viertes Herz mit der gleichen Flüssigkeit durchströmt und dann die notwendigen Zusätze bis zum Stillstand ermittelt.

Bei der Beurteilung der Wirkung wurden folgende Stadien unterschieden und bezeichnet:

\+ bedeutet: vollständiger systolischer Herzstillstand,
\+? „ diastolischer Stillstand,
(+) „ Verkleinerung der Amplitude auf etwa $^1/_3$ der ursprünglichen Höhe,
(±) u. ± bedeutet: geringere bzw. stärkere Verlangsamung der Frequenz,
− ± „ keine wesentliche Störung.

Neben der Messung der Schlagfrequenz, die in der Regel alle 5—10 Min. erfolgte, wurde in denselben Zeitabständen auch die Messung des Coronarminutenvolumens durchgeführt. Änderungen dieses Wertes haben aber in der hier gewählten Versuchsanordnung keine so wesentliche Bedeutung für die Glykosidbindung wie nach Weese[2] am Ganztier, weil der beim ersten Male nicht gebundene Anteil des Pharmakons nicht in der Peripherie des intakten Tieres abgefangen werden kann und weil die Beobachtungszeit ein Vielfaches der Kreislaufzeit beträgt. In unseren Versuchen wurde wie schon früher bei ähnlichen Versuchen an Ratten- und Meerschweinchenherzen eine Beobachtungszeit von 40—50 Min. zugrunde gelegt und als Dos. let. min. die Glykosidmenge bezeichnet, die innerhalb dieser Zeit gerade einen systolischen Herzstillstand bewirkte. Das Coronarminutenvolumen betrug meist 20—30 ccm. Das ergibt für die Kreislaufzeit bei einer zirkulierenden Flüssigkeitsmenge von 10—20 ccm Werte von $^1/_3$ bis 1 Min.

Berechnungsgrundlage für die Bindungsgröße.

Erstes Erfordernis war es, unter den gewählten Bedingungen die Dos. let. min. zu bestimmen. Sie betrug nach den in Tabelle 1 zusammengestellten Versuchsergebnissen an ungeschädigten Herzen im Mittel 1,7 γ pro g Herz.

Als Erläuterung für die Berechnung der Bindungsgröße in den Passageversuchen diene folgendes Beispiel:

Versuchs-Nr. 40/41	Dosis	Wirkung in Min.	I. Zusatz	Wirkung in Min.	II. Zusatz	Wirkung in Min.
I. Herz = 5,25 g	10 γ	+ 60				
II. Herz = 4,12 g	Lösung vom I. Herzen	— 17	5 γ	(+) 94	2 γ	+ 40

Unter der Annahme, daß das zweite Herz, als es in Systole zum Stillstand kam, pro 1,7 γ gebunden hatte, ergibt sich für dieses Herz bei einem Gewicht von 4,12 g eine Gesamtbindung von 7 γ. Demnach mußte das erste Herz insgesamt 10 γ, also 1,9 γ pro g gebunden haben. In einem Teil der Versuche, in denen das Testherz nach einer Beobachtungszeit von 40 Min. oder früher eine charakteristische Wirkung zeigte (entsprechend Tabelle 1), wurde auf einen Zusatz, der das Herz bis zum vollständigen systolischen Stillstand gebracht hätte, verzichtet, und aus der Wirkung die jeweils vorhandene Glykosidmenge geschätzt, ein Verfahren, das nach der Erfahrung aus einer großen Zahl von Versuchen berechtigt ist und zuverlässige Resultate gibt.

Tabelle 1. Letale Dosis am ungeschädigten Herzen.

γ/pro g Herz	Wirkungsgrad	Beobachtungszeit in Min.
0,68	—	63
0,91	(+)	102
1,10	—	60
1,36	+	60
1,42	(+)	85
1,59	+	144 (Zusätze)
1,77	+	44
1,81	(+)	45
1,98	+	43
2,41	+	24
3,66	+	18
7,71	+	19
11,35	+	12

In der Tabelle 1 sind eine Reihe von Versuchen zusammengestellt, die die Glykosidwirkung bei verschieden hoher Dosierung am ersten Herzen zeigen. Man kann dabei verhältnismäßig zwanglos 3 gröbere Abstufungen erkennen. Bei Werten bis 1,5 γ pro g Herz kommt es innerhalb einer Beobachtungszeit von 40—50 Min. nicht zu einem vollständigen systolischen Stillstand. Die Forderung wird erst in der Mehrzahl der Fälle erfüllt bei einer Dosierung von 1,5—2,0 γ pro g Herz. Die höher als 2 γ liegenden Werte führen immer zum systolischen Stillstand, und zwar ist die dazu notwendige Zeit deutlich von der Höhe der Dosierung abhängig.

Eine Anzahl von Passageversuchen wurde zunächst unter Normalbedingungen ausgeführt, um die Abhängigkeit der Bindungsgröße von dem

Angebot zu ermitteln. Es schien nämlich durchaus möglich, daß bei Einwirkung überletaler Konzentrationen, mit denen an sich mehr als 2 oder 3 Herzen vergiftet werden könnten, auch die Bindung am Herzen größer sein kann. Weese[9] hat zwar bei seinen Passageversuchen am Herz-Lungenpräparat von Katzen festgestellt, daß die bis zum Herzstillstand gebundene „Aufbrauchdosis" unabhängig von der Konzentration jeweils dieselbe bleibt. Wir prüften diese Frage unter unseren Versuchsbedingungen nach. Dabei wurde auch die passive Durchströmung nach Stillstand des Herzens noch bis zur sonst üblichen Wirkungszeit von 40—50 Min. weitergeführt.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 2 aufgenommen.

Tabelle 2. g-Strophanthinbindung unter normalen Bedingungen bei verschieden hohem Angebot.

Versuch Nr.	g-Strophanthinangebot am I. Herzen		Zahl der Versuchsherzen	Vom Testherz gebunden* γ pro g	Berechnete Bindung an den übrigen Herzen γ-pro g
	Konzentration	Menge in γ			
40/41	1/1500000	10	2	1,7	1,9
13/14	1/1000000	15	2	1,3	3,2
31/32	1/750000	20	2	1,3	2,9
29/30	1/750000	20	2	1,7	2,9
19/20	1/350000	40	4	2,1	2,6
15—18	1/300000	50	4	1,4	3,2

* Berechnet nach der Wirkung am letzten Herzen des Passageversuches, evtl. nach Zusätzen bis zum Stillstand.

In dieser Tabelle sind in der zweiten Spalte die dem ersten Herzen angebotenen Glykosidkonzentrationen sowie die absolute Glykosidmenge eingetragen. Die Berechnung erfolgte wie oben angegeben. Dabei muß hinzugefügt werden, daß bei Versuchen mit mehr als 2 Herzen nach Abzug der von dem Testherzen gebundenen Menge (vgl. Spalte 4) die restliche Glykosidmenge als auf die übrigen Herzen gleich verteilt angenommen wurde. Eine weitere Differenzierung in dieser Richtung war nicht möglich, obwohl sie wünschenswert gewesen wäre, denn es zeigte sich, daß unter höherer Konzentration tatsächlich an den ersten Herzen auch eine größere Glykosidmenge gebunden wird. Allerdings ist die Bindung nicht der Konzentration proportional, sondern steigt in geringerem Maße an. Es kann danach also nicht wie bei Weeses Versuchen mit einer immer gleichen „Aufbrauchdosis" gerechnet werden. Um Versuchsfehler zu vermeiden, darf also das Angebot nicht von vornherein größer gewählt werden in der Annahme, daß vielleicht unter pathophysiologischen Bedingungen eine stärkere Bindung erfolgen würde, sondern es muß jeweils unter den gleichen Versuchsbedingungen, wie sie bei Vorversuchen an normalen Herzen ausprobiert worden sind, begonnen werden.

[9] Weese, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **135**, 238 (1928).

Nachdem diese Verhältnisse unter normalen Bedingungen an einem etwas größeren Tiermaterial durchgeprüft waren, wurde in den folgenden Versuchen, bei denen die Bindung an experimentell geschädigten Herzen untersucht wurde zur Wahrung gleicher Versuchsbedingungen die Erstdosierung stets so gewählt, daß das zweite Herz schon als Testherz benutzt wurde.

II. Bindungsversuche bei Sauerstoffmangel.

Um bei den Untersuchungen über die Glykosidbindung bei Sauerstoffmangel eine geringere, aber experimentell reproduzierbare und gleichmäßige geringere Sauerstoffsättigung der Ringerlösung als unter Normalbedingungen zu erhalten, wurde in einem Douglas-Sack das gewünschte O_2—N_2-Gemisch hergestellt, dem jeweils, um den p_H-Wert konstant zu halten, 5 Vol.% CO_2 zugesetzt wurden. Dieses Gasgemisch wurde mittels einer kleinen elektromagnetischen Membranpumpe an Stelle des O_2—CO_2-Gemisches in die Apparatur geblasen.

Vorversuche zeigten, daß bei einem Gehalt des Gasgemisches von 50% O_2 sofort nach Umschaltung auf die damit gesättigte Lösung eine anhaltende Verkleinerung der Kontraktionshöhe und eine Verlangsamung der Schlagfrequenz auftrat. Diese Erscheinungen waren bei Rückschaltung auf Ringerlösung mit dem normalen Gemisch von 95% O_2 und 5% CO_2 in wenigen Minuten wieder verschwunden. Bei einem Gasgemisch mit 20% O_2 waren die beschriebenen Verschlechterungen entsprechend deutlicher. Die Erholung war nicht vollständig und bei länger dauernder schlechter O_2-Versorgung dilatierte das Herz stark. Eine zuerst starke, dann langsam abnehmende Coronarerweiterung war durchweg festzustellen. Diese dilatatorische Wirkung unter O_2-Mangel und die damit verbundene Zunahme der Durchströmungsgröße stellten schon Hilton und Eichholtz[10] am Herz-Lungenpräparat fest. Die Durchblutung kann sogar nach Gremels und Starling[11] bei einer O_2-Sättigung unter 50% das 4—5fache der anfänglichen Größe erreichen, auch dann, wenn CO_2-Spannung und Wasserstoffionenkonzentrationen konstant gehalten werden.

Bei unseren Versuchen ergab sich zunächst, daß die in den Normalversuchen nach Zusatz von g-Strophanthin immer beobachtete Frequenzsteigerung mit Kontraktionsverbesserung, die man als „therapeutische Wirkung" ansprechen kann, hier nicht auftrat.

Diese Befunde stimmen mit den Beobachtungen von König[12] überein, der bei Untersuchungen am isolierten Meerschweinchenherz feststellte, daß Sauerstoffmangel die therapeutische Strophanthinwirkung weitgehend herabsetzen bzw. vollkommen aufheben könnte. Ebenso fanden Kisch

[10] Hilton, R., u. F. Eichholtz: J. Physiol. (Brit.) **59**, 413 (1924). — [11] Gremels, H., u. E. H. Starling: Ebenda **61**, 297 (1926). — [12] König, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **127**, 349 (1927).

und Schwarz[13] bei ihren Versuchen über die Wirkung von Strophanthin auf das Ekg. von Katzen unter Sauerstoffmangel keine Steigerung der systolischen Leistung durch Strophanthin. Der systolische Stillstand — also die toxische Wirkung — trat dagegen in unseren Versuchen immer ein, was auch mit den Angaben von König[12] übereinstimmt.

Die Prüfung der Bindungsgröße unter O_2-Mangel ergab, wie aus Tabelle 3 ersichtlich, daß sie in allen Fällen um 1,5—1,7 γ pro g Herz lag, also sich von derjenigen unter Normalbedingungen nicht unterschied. Dies steht zunächst im Gegensatz zu Cherkess und Rosovskaya[14], die bei anoxämisch gemachten Hunden eine geringere letale Dosis für Strophanthin ermitteln konnten. Die Empfindlichkeitssteigerung des Herzens gegen Strophanthin ging in ihren Versuchen einigermaßen parallel dem Grade der Anoxämie. Bei diesen Versuchen am Ganztier wurde freilich nicht die Bindungsgröße als solche berechnet, sondern nur die Toxizität. Es ist unter dieser komplexen Bindung durchaus möglich, daß z. B. infolge der erhöhten Coronardurchblutung die relative Verteilung des Glykosids auf das Herz zuungunsten der extrakardialen Peripherie verschoben werden kann. Aber auch abgesehen von einer solchen etwaigen indirekt bedingten Mehrbindung des Glykosids könnte die verstärkte Toxizität sich allein aus der Addition von Schädigungen am erstickenden Herzen erklären.

Tabelle 3. g-Strophanthinbindung bei O_2-Mangel.

Versuch Nr.	Versuchsherzen	O_2	Dosis	Wirkung in Min.	I. Zusatz in γ	Wirkung in Min.	II. Zusatz in γ	Wirkung in Min.	Bindung pro g Herz
43	I. = 5,6 g	50%	10 γ	+ 36					1,5 γ
44	II. = 5,02 g	95%	Lösung vom I. Herzen	— 38	5 γ	(+) 66			1,3 γ
47	I. = 5,87 g	20%	10 γ	+ 54					1,7 γ
48	II. = 5,25 g	95%	Lösung vom I. Herzen	— 31	5 γ	(+) 61	2 γ	+ 26	1,3 γ
54	I. = 7,27 g	20%	10 γ	— 68	3 γ	(+) 40			1,7 γ
55	II. = 3,95 g	95%	Lösung vom I. Herzen	— 16	5 γ	+ 63			1,5 γ

III. Bindungsversuche bei CO_2-Überladung.

Das gewünschte O_2—CO_2-Gemisch wurde wiederum, wie schon im vorigen Abschnitt beschrieben, im Douglas-Sack hergestellt und durch die Membranpumpe in das System getrieben. Wie Vorversuche zeigten, sank

[13] Kisch, F., u. H. Schwarz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 557 (1936). — [14] Cherkess u. Rosovskaya: zit. nach Ber. Physiol. usw. **111**, 480 (1939).

die Kontraktionshöhe bei einem Gehalt des Gasgemisches von 20% CO_2 langsam innerhalb von 50 Minuten bis auf etwa $^2/_3$ der anfänglichen Kontraktionshöhe. Ebenso nahm die Pulzfrequenz von 118 auf 72 ab. Bei einem Gehalt von 30% CO_2 waren die Schädigungen entsprechend größer, und bei einem Gehalt des Gasgemisches von 40% CO_2 kam es innerhalb 1 Minute fast zum diastolischen Stillstand des Herzens. Hiergegen beobachteten Flaum und Rössler[15] bei ihren Versuchen mit dem Herz-Lungenpräparat von Hunden, daß schon ein Gemisch von 20% CO_2 in Sauerstoff innerhalb weniger Minuten zum völligen Versagen des Herzens führte.

Alle beschriebenen Schädigungen waren nach Rückschaltung auf Ringerlösung mit normalem Gasgemisch — auch bei stärkster Schädigung mit fast völligem Stillstand des Herzens — in einigen Minuten voll reversibel. Ebenso wie bei Sauerstoffmangel war auch hier eine starke Dilatation des Herzens zu beobachten und eine Coronar erweiterung, bei der die in der Minute durchfließende Menge auf das 2—3fache erhöht war.

Einige Kontrollversuche mit Belüftung der Systemflüssigkeit mit verschieden hoher CO_2-Konzentration ergaben folgendes Verhalten der aktuellen Reaktion und der Herzleistung. Eine 40 Minuten lange Belüftung mit 5% CO_2 beeinflußte die Hubhöhe nicht, die Frequenz lag bei 132—116, die p_H-Werte bei 7,5—7,6. Bei 40 Min. Belüftung durch 20% CO_2 sank der p_H-Wert schnell auf 7,12 und allmählich weiter auf 6,93. Dabei nahm die Frequenz deutlich ab (118—72), und die Kontraktionshöhe sank auf etwa $^2/_3$ der Ausgangshöhe. Umschaltung auf 5% CO_2 ließ die ursprünglichen Verhältnisse fast vollkommen wieder eintreten. Belüftung mit 40% CO_2 senkte die p_H-Werte auf 6,73 bis 6,66. Dabei war das Herz stark dilatiert und schließlich trat diastolischer Stillstand ein. Auch diese Lähmung war reversibel.

Nach Zusatz von g-Strophanthin besserte sich unter CO_2-Belüftung die Herzkontraktion in geringem Maße, während die Schlagfrequenz weiterhin abnahm. Die vorher beschriebene starke Coronarerweiterung ging unter der Einwirkung des Glykosids meist wieder auf den Normalwert zurück. Der systolische Stillstand trat in jedem Falle ein, jedoch war die Vergiftungszeit, die bei Normalversuchen und auch bei O_2-Mangel zwischen 40—50 Min. lag, hier deutlich verlängert, was wohl auf die starke Herabsetzung der Schlagfrequenz zurückzuführen ist. Die nach unserem Berechnungsverfahren (siehe S. 529) vom Herzen gebundene Glykosidmenge zeigte, wie die Zusammenstellung der Versuche in Tabelle 4 erkennen läßt, auch hier keinen Unterschied von derjenigen unter Normalbedingungen, sie schwankte zwischen 1,6—1,9 γ pro g Herz.

[15] Flaum, E., u. R. Rössler: Klin. Wschr. **1933**, S. 1489.

Tabelle 4. g-Strophanthinbindung bei CO_2-Überladung.

Versuch Nr.	Versuchsherzen	CO_2	Dosis	Wirkung in Min.	I. Zusatz in γ	Wirkung in Min.	II. Zusatz in γ	Wirkung in Min.	Bindung pro g Herz
50	I. = 3,88 g	30%	10 γ	+ 62					1,9 γ
51	II. = 3,93 g	5%	Lösung vom I. Herzen	− 53	3 γ	(+) 47	2 γ	+ 10	1,9 γ
52	I. = 4,34 g	20%	10 γ	− 67	3 γ	(+) 45			1,6 γ
53	II. = 4,75 g	5%	Lösung vom I. Herzen	− 80	2 γ	+ 40			1,7 γ
56	I. = 6,65 g	20%	12 γ	+ 160					1,8 γ
57	II. = 3,14 g	5%	Lösung vom I. Herzen	− 29	4 γ	− 91	2 γ	+ 29	1,7 γ

IV. Bindungsversuche bei calciumarmer Ringerlösung.

Um eine genügende Schädigung des Herzens durch Calciummangel zu erzielen, wurde eine Ringerlösung als Speiseflüssigkeit benutzt, die nur $^1/_3$ des normalen Calciumgehalts enthielt. Bei Durchströmung mit calciumfreier Ringerlösung, die nach Einfüllung ins System nicht mehr erneuert wurde, trat teils eine so starke Schädigung ein, daß sich das Herz schon innerhalb weniger Minuten kurz vor dem diastolischen Stillstand befand, was auch mit den Angaben von v. Konschegg[16] übereinstimmt, teils erholten sich die Herzen nach anfänglich stärkerer Schädigung wieder bis zur Hälfte ihrer Kontraktionshöhe bei normaler Ringerlösung. Das ist wohl damit zu erklären, daß die Herzen nach den Feststellungen von Boehm[17] und Arima[18] Calciumionen aus ihrem Bestand an die Speiseflüssigkeit abgeben, und somit sekundär eine calciumarme Lösung herstellen. Eine Dilatation von Vorhof oder Kammer, wie sie Heim[19] am Froschherzen beobachtete, konnten wir in unseren Versuchen nicht feststellen, wenigstens nicht innerhalb einer Beobachtungszeit von 50—60 Min. Während der Coronardurchfluß unter Calciummangel eine immerhin deutliche Abnahme zeigte, erfuhr die Pulsfrequenz keine wesentliche Änderung, wogegen v. Konschegg[16] stets eine, wenn auch geringfügige Erniedrigung der Frequenz am Froschherzen bemerken konnte.

Das nun der Systemflüssigkeit zugesetzte g-Strophanthin bewirkte eine deutliche Vergrößerung der Amplitude, ohne daß allerdings die ursprüngliche Höhe wieder erreicht wurde. Dieser Befund steht im vollen Einklang mit den Ergebnissen von v. Konschegg[16], Clark[20] und Loewi[21], die eine Digitaliswirkung sogar in calciumfreier Ringerlösung

[16] v. Konschegg, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **71**, 251 (1913). — [17] Boehm, R.: Ebenda **75**, 230 (1913). — [18] Arima, R.: Pflügers Arch. **157**, 531 (1914). — [19] Heim, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 214 (1936). — [20] Clark, A. J.: Proc. Soc. Med., Lond. **5**, 181 (1912). — [21] Loewi, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 131 (1918).

feststellen konnten. Die anfängliche „therapeutische Wirkung" ging allmählich durch Heben der Fußpunkte in eine toxische über, um schließlich in einem typisch systolischen Stillstand des Herzens zu endigen.

Diese Wirkung des Strophanthins — wie überhaupt die Wirkung der Digitalisglykoside allgemein — macht Loewi[21] auf Grund seiner Versuche abhängig von der Anwesenheit von Calcium in der Speiseflüssigkeit, und sei es nur in geringsten Mengen. Er geht in seiner Annahme sogar so weit, dem Strophanthin und somit dem Digitalis eine Eigenwirkung abzusprechen und diese als eigentliche Calciumwirkung hinzustellen, wobei das Strophanthin nur die Aufgabe habe, das gesunde oder kranke Herz für Calcium zu sensibilisieren.

Diese Sensibilisierungstheorie Loewis änderte Pohle[22] dahin ab, daß sich die Verwandtschaft von Digitaliswirkung und Calciumwirkung nicht auf das Calciumion bezieht, sondern auf einen Calciumkomplex, und zwar besitze Digitalis eine Eigenwirkung, die aber der des Komplexes weitgehend gleiche. Er versucht nun die größere Empfindlichkeit des kranken Herzens gegenüber Digitaliskörpern damit zu erklären, daß hier das Glykosid im Komplex einen verlorengegangenen Baustein ersetze im Gegensatz zum gesunden Herzen, wo nur ein Bestandteil gegen einen anderen ausgetauscht werden soll.

Diese Fragen weiterhin experimentell zu prüfen, hatten wir uns in unseren Versuchen jedoch nicht zur Aufgabe gemacht, sondern es sollte hier lediglich nur Wirkung und Bindungsgröße von g-Strophanthin unter Calciummangel untersucht werden.

Tabelle 5. g-Strophanthinbindung bei Ca-Mangel.

Versuch Nr.	Versuchsherzen	Ca	Dosis	Wirkung in Min.	I. Zusatz in γ	Wirkung in Min.	II. Zusatz in γ	Wirkung in Min.	Bindung pro g Herz
66	I. = 6,4 g	33%	10 γ	— 59	5 γ	+ 23			1,6 γ
67	II. = 5,7 g	100%	Lösung vom I. Herzen	— 51	5 γ	+ 33			1,7 γ
68	I. = 5,89 g	0%	10 γ	— 61	2 γ	+ 25			2,0 γ
69	II. = 5,5 g	100%	Lösung vom I. Herzen	— 43	5 γ	— 60	4 γ	+ 42	1,7 γ
70	I. = 6,94 g	0%	10 γ	— 47	5 γ	— 51	3 γ	+ 76	2,0 γ
71	II. = 5,87 g	100%	Lösung vom I. Herzen	— 40	6 γ	+ 51			1,7 γ

Was nun den Verlauf der Strophanthinwirkung angeht, so fanden wir keinen wesentlichen Unterschied zu den Versuchen unter Normalbedin-

[22] Pohle, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 130 (1934).

gungen entgegen den Beobachtungen von Hoffmann[23], der eine baldige toxische Beeinflussung kalkarm ernährter Froschherzen feststellte, was durch Unregelmäßigkeit des Herzschlages und Pulshalbierung zum Ausdruck kam. Ebenso wich die errechnete Bindungsgröße (siehe Tabelle 5) von g-Strophanthin bei calciumarmer Ringerlösung nicht von der unter normalen Bedingungen ab, sie schwankte zwischen 1,6—2,0 γ pro g Herz.

V. Pilocarpinschädigung.

Vorversuche zeigten, daß bei einer Pilocarpinkonzentration von $^1/_{40000}$ eine für unsere Versuche genügende Schädigung erreicht wurde. Es trat dabei eine starke Verlangsamung der Schlagfolge ein und die Kontraktionshöhe nahm stark ab, zum Teil bis zum völligen diastolischen Stillstand. Dieses Stadium der Herzlähmung durch Vagusreizung war aber spontan reversibel auch bei Erhaltenbleiben der Pilocarpinkonzentration. Diese Beobachtung deckt sich mit den Erfahrungen von Loewi[24] und anderen, die unter Dauerreizung des Vagus nur eine vorübergehende diastolische Lähmung des Herzens beobachteten. In den meisten Versuchen verwendeten wir, um eine genügend starke Vagusreizwirkung zu erzielen, noch höhere Konzentrationen als die angegebene Grenzkonzentration, z. B. $^1/_{20000}$ oder $^1/_{13400}$. Diese Konzentrationen wurden erreicht durch neue Zusätze von Pilocarpin zu der anfänglichen Giftkonzentration von $^1/_{40000}$, wenn ein Herz sich für diese Grenzkonzentration wenig empfindlich erwies. Weitere Kontrollversuche ergaben, daß diese Vagusreizwirkung durch Atropinkonzentrationen $^1/_{500000}$ bis $^1/_{1000000}$ aufgehoben werden konnte. Unter seiner antagonistischen Einwirkung kam es stets zu einer Beschleunigung der Herzaktion und einer Erhöhung der Kontraktionsleistung. Bei den Passageversuchen wurde vor Übertragung der Pilocarpin-Strophanthinlösung auf das Testherz diese Atropinzugabe vorgenommen, um am zweiten Herzen die Strophanthinwirksamkeit ohne gleichzeitige Vaguserregung festzustellen.

Daß im übrigen die Pilocarpinschädigung durch Atropin wieder vollkommen aufgehoben wird und das Testherz unter normalen physiologischen Bedingungen arbeitete, möge folgender Kontrollversuch zeigen.

Der zirkulierenden Nährflüssigkeit eines Herzens wurden gleichzeitig Pilocarpin $^1/_{20000}$, Atropin $^1/_{500000}$ und 10 γ g-Strophanthin zugesetzt. Das Herz zeigte danach zunächst eine normale Aktion. Der systolische Stillstand durch Strophanthin trat in der üblichen Zeit noch nicht ein, sondern erst nach weiterem Zusetzen von 4 γ. Daraus folgt bei einem Herzgewicht von 7,45 g, daß etwa 1,9 γ pro g Herz tödlich wirkten. Diese Dosierung entspricht den normalen Verhältnissen.

---

[23] Hoffmann, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **96**, 105 (1922). — [24] Loewi, O.: Pflügers Arch. **193**, 201 (1922); **204**, 630 (1924).

Bei den eigentlichen Passageversuchen wurde etwa 5 Min. nach Eintreten der Pilocarpinwirkung am ersten Herzen die übliche Dosis von g-Strophanthin zugesetzt. Diese bewirkte eine deutliche Zunahme der Amplitudengröße, die meist die ursprüngliche Kontraktionshöhe wieder erreichte. Parallel mit dieser „therapeutischen Wirkung" verlief eine mäßige Coronarerweiterung, die aber dann mit zunehmender Kontraktur wieder in stärkerem Maße abnahm. In 50% der Fälle trat nach längerer Versuchsdauer eine starke Dilatation des Herzens ein, die immer mit einer deutlichen Coronarerweiterung einherging. Der systolische Stillstand wurde in unseren Versuchen immer erreicht, was auch mit den Ergebnissen von Berk[25] übereinstimmt, der bei seinen Untersuchungen am Froschherzen feststellte, daß Pilocarpin die Strophanthinkontraktur nicht zu verhindern vermag, im Gegensatz zu Physostigmin, Azetylcholin und Lentin, die einen diastolischen Stillstand unter Strophanthin bewirken, allerdings auch nur an Winterfröschen. Die durch Pilocarpin stark verminderte Frequenz erfuhr durch das Strophanthin keine wesentliche Änderung mehr.

Wie nun die Zusammenstellung der Passageversuche in Tabelle 6 erkennen läßt, ist an den mit Pilocarpin vorbehandelten Herzen eine deutliche Mehrbindung festzustellen, die fast das Doppelte der Bindungsgröße unter Normalbedingungen beträgt, nämlich 2,9—3,3 γ pro g Herz.

Die Mehrbindung von Glykosid an das isolierte Herz unter Vaguswirkung liegt sicher außerhalb der Streuung solcher Versuchsergebnisse. Sie war übrigens auch in der erwähnten Kontrolle mit gleichzeitigem Atropinzusatz zur Aufhebung der Pilocarpinwirkung nicht zu verzeichnen. Zur Erklärung dieses Befundes war zunächst an die Möglichkeit zu denken,

Tabelle 6. g-Strophanthinbindung bei Pilocarpinschädigung.

Versuch Nr.	Versuchsherzen	Konzentration	Dosis	Wirkung in Min.	I. Zusatz in γ	Wirkung in Min.	II. Zusatz in γ	Wirkung in Min.	Bindung pro g Herz
58	I. = 3,5 g	Pilocarpin $^1/_{13\,400}$	10 γ	— 60	3	— 49	2	(+)100	3,3
59	II. = 3,77 g	+ Atropin $^1/_{1\,000\,000}$	Lösung vom I. Herzen	— 60	2	+ 51			1,7
62	I. = 4,47 g	Pilocarpin $^1/_{13\,400}$	10 γ	— 64	5	(+) 37			2,9
63	II. = 3,62 g	+ Atropin $^1/_{500\,000}$	Lösung vom I. Herzen	— 51	2	— 67	2	+ 20	1,7
64	I. = 5,7 g	Pilocarpin $^1/_{20\,000}$	10 γ	— 62	5	— 41	3	+ 29	3,0
65	II. = 5,1 g	+ Atropin $^1/_{1\,000\,000}$	Lösung vom I. Herzen	— 32	5	— 44	3	+ 48	1,7

[25] Berk, L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **168**, 638 (1922).

daß durch die Pilocarpin-Vagusreizung vielleicht eine Permeabilitätsänderung erzeugt wird, welche eine Mehraufnahme des Glykosids in das Zellinnere und damit eine Mehrbindung an das Muskeleiweiß (Dybing und Holzhausen[26]) verursachen könnte. Diese Möglichkeit muß aber auf Grund der Erfahrungen, daß der Sympathicus und nicht der Parasympathicus auf die Membranpermeabilität fördernd wirkt (Asher u. Mitarbeiter[27]), ausgeschlossen werden.

Auch aus einer Beeinflussung der Coronarweite durch Pilocarpin läßt sich die Feststellung nicht erklären. In vivo würde eine Verminderung der Coronardurchblutung unter Vagusreizung vielleicht eine Verschiebung der Verteilung zu ungunsten des Herzens auf die extrakardiale Peripherie bedingen können. In unseren Versuchen an isolierten Herzen besteht aber keine solche Möglichkeit. Außerdem ist das Durchströmungsverhältnis dabei so günstig, daß eine etwaige Coronarverengerung keine wesentliche Hemmung für die Bindung darstellen kann. Übrigens wurde ja auch eine Mehrbindung von Glykosid gefunden.

Auch auf Grund neuerer Erfahrungen über die Abhängigkeit der Glykosideiweißbindung von verschiedenen Milieubedingungen (Hagemeier, Haarmann, Korfmacher und Lendle[28, 29]) können wir noch keine Erklärung für den Einfluß des Pilocarpins auf die Strophanthinbindung am Herzen geben.

Zusammenfassung.

In Passageversuchen wurde am isolierten, durchströmten Kaninchenherzen die Bindungsgröße von g-Strophanthin unter verschiedenen Bedingungen ermittelt. In einer besonderen Versuchsanordnung mit zirkulierender Durchströmung gelang es, das Verhältnis zwischen Nährlösung und Bindungssubstrat so günstig zu gestalten, daß die Bindungsverhältnisse quantitativ ausgewertet werden können.

In Vorversuchen ergab sich als „Aufbrauchdosis" am nichtgeschädigten Herzen eine Glykosidmenge von 1,5—2,0 γ pro g Herz. Weitere Versuche zeigten, daß die Bindungsgröße bei Angebot überletaler Konzentrationen nicht der Konzentrationssteigerung proportional ansteigt, sondern in geringerem Grade. Die Aufbrauchdosis ist also in gewissem Umfange von dem Angebot abhängig. Diese Tatsache wurde bei der Ausführung der Bindungsversuche am geschädigten Herzen beachtet.

Unter O_2-Mangel blieb die primäre „therapeutische Wirkung" des Strophanthins am geschädigten Herzen aus. Für die Toxizität wurde kein

---

[26] Dybing, O., u. H. G. Holzhausen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 248 (1939). — [27] Asher, L.: zit. nach Bethe-Bergmann: Hdb. d. norm. u. path. Physiol., Bd. X, S. 1165. — [28] Haarmann, W., A. Hagemeier u. L. Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 205 (1939). — [29] Haarmann, W., K. Korfmacher u. L. Lendle: Ebenda **194**, 229 (1939).

Unterschied festgestellt. Die Bindungsgröße am Herzen lag mit 1,5—1,7 γ pro g im Bereich der Norm.

Bei Co_2-Überladung der Nährlösung war die Herzleistung schlecht, die primäre therapeutische Strophanthinwirkung kam zur Geltung. Die Toxizität schien die gleiche, die systolische Endwirkung trat jedoch langsamer ein, vielleicht infolge der geringeren Frequenz. Die dabei gebundene Glykosidmenge war mit 1,6—1,9 γ pro g Herz nicht verändert.

Bei Ca-Mangel in der Nährlösung war die Herzleistung vermindert. Die therapeutische Strophanthinwirkung kam deutlich zur Geltung, die toxische Wirkung war nicht verändert. Auch die Bindungsgröße ließ mit 1,6—2,0 γ pro g Herz keine Abweichung erkennen.

Allein die Pilocarpinschädigung bewirkte eine Mehrbindung von Strophanthin mit 2,9—3,3 γ pro g Herz. Die therapeutische Strophanthinwirkung war dabei deutlich erkennbar und die toxische Wirkung war nicht verändert, vielleicht war die Wirkung zeitlich etwas verzögert. Bei gleichzeitiger Einwirkung von Atropin und Pilocarpin, wobei die Vagusreizwirkung unterblieb, war die Bindungsgröße nicht erhöht.

Die Ergebnisse dieser Arbeit machen es unwahrscheinlich, daß die klinisch beobachtete Überempfindlichkeit dekompensierter Herzen auf einer Mehrbindung von Glykosid oder Erhöhung der Toxizität infolge eines direkten O_2-Mangels oder einer CO_2-Überladung im Coronarblut oder infolge etwaiger Verschiebungen im Calciumgehalt beruht. Es ist als wahrscheinlich anzunehmen, daß bei lang bestehenden Zuständen von Dekompensation andere Voraussetzungen im Stoffwechsel oder Aufbau der Herzmuskulatur für eine erhöhte Empfindlichkeit geschaffen werden. Möglicherweise erklärt sich diese auch aus den mittelbaren Digitaliswirkungen im Sinne von Edens, die aber im akuten Versuch an isolierten Organen nicht zu prüfen sind.

Die Ursachen für die besonderen Bindungsverhältnisse an pilocarpingeschädigten Herzen werden erörtert.

Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Universität Wien.

Untersuchungen über „Veritol".

Von

Hans Kuttelwascher.

Assistent des Instituts. Unterarzt d. R. (zur Zeit im Felde).

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. Juni 1940.)

Zu den wichtigsten therapeutischen Hilfsmitteln für die Bekämpfung der peripheren Kreislaufschwäche gehört das β-(p-Oxyphenyl)-Isopropylmethylamin, welches von der Firma Knoll A. G., Ludwigshafen a. Rh., unter dem Namen „Veritol" in den Handel gebracht wird. Die tierexperimentellen Grundlagen zur Kenntnis seiner Wirkungsweise verdanken wir den zahlreichen ausführlichen Arbeiten von Biehler[1], Eichler[2], Heymans und Bayless[3], Lindner[4], Mügge[5], Rein[6] und Zipf[7]. Diese Untersuchungen, die unter anderem die langanhaltende Wirkung, die geringe Toxizität, die mäßige, nur wenig den physiologischen Wert überschreitende Blutdrucksteigerung, die geringfügige Verengung des arteriellen Kreislaufschenkels und vor allem die dem natürlichen Regulationsmechanismus ähnliche Wirkungsweise ergaben, berechtigten zu der Hoffnung, in dem Veritol ein ideales Kreislaufmittel gefunden zu haben. Tatsächlich fand das Veritol in kurzer Zeit bei verschiedenen Zustandsbildern erfolgreiche Anwendung, wie z. B. beim postoperativen Kollaps (Dreyer[8], D. Schneider[9]), bei Vergiftungen und Infektionskrankheiten, die mit einer peripher bedingten Gefäßlähmung einhergehen (Dieckhoff[10], Robbers[11]), zusammen mit Cardiazol als Weckmittel aus der Narkose (Stumpf[12]), bei hypotonen Beschwerden (Tümmerhoff und Schlommka[13]) und zur Verhütung postoperativer Thrombosen und Embolien (Dreyer). Es schien, als würden sich die im Tierexperiment gewonnenen Erfahrungen auch bei der Anwendung am Menschen in jeder Weise bestätigen.

Nichtsdestoweniger mehrten sich bald Befunde, die dafür sprachen, daß die Wirkungsweise des Veritols beim Menschen doch eine wesentlich andere sei als die bei Tieren gefundene und daß seine Anwendung daher mit der nötigen Vorsicht erfolgen müsse. So erscheint es heute als sichergestellt, daß das Veritol, welches im Tierversuch nur eine geringe Tonisierung der Arterien und daher keine hochgradige Blutdrucksteigerung mit Drosselung der Blutversorgung der Organe bewirkt, beim Menschen zu einer beträchtlichen Arteriokonstriktion führen kann und die erhaltenen

Blutdruckwerte höher sind als die, welche wir beim Tier zu finden gewohnt sind. Meyer und Spiegelhoff[14], welche neben den Druckverhältnissen die durch Veritol bedingten Veränderungen des Minutenvolumens am Menschen mit der physikalischen Methode nach Broemser und Ranke untersuchten, fanden durch Berechnung der Widerstandsgröße in den Arterien, daß die Drucksteigerung zum Teil durch eine periphere Vasokonstriktion bedingt sein muß. Auch die stufentonosphygmographischen Untersuchungen von Sturm und Voges[15] ergaben, daß das Veritol beim normalen Menschen zu einer Erweiterung der Gefäße, beim Vasolabilen hingegen zu einer starken Verengung derselben führt. Wie überhaupt von zahlreichen Autoren immer wieder die individuell verschiedene Empfindlichkeit gegenüber Veritol betont wird. Weiters scheint das Veritol beim gesunden Menschen höhere Blutdruckwerte zu bewirken als beim Kranken (Robbers) und bei gewissen Zustandsbildern, wie z. B. beim echten Schock (H. Schneider und Kopp[16]) sogar wirkungslos zu sein.

Einen weiteren Unterschied zwischen Mensch und Tier zeigt das Verhalten der Pulsfrequenz. Beim Tier kommt es gewöhnlich zu einer geringgradigen Frequenzerhöhung, welche in der Bewältigung des vermehrten Blutangebots ihre Bedeutung hat. Beim Menschen, und zwar besonders bei jenen Personen, welche mit einer hohen Drucksteigerung reagieren, zeigt sich dagegen eine starke Verlangsamung der Schlagfolge. Es liegt auf der Hand, diese Bradykardie als eine Auswirkung der drucksteuernden Reflexe aufzufassen, welche über den Vagus den Sinusknoten des Herzens beeinflussen. Durch ihre Atropinversuche am Menschen konnten Grosse-Brockhoff und Kaldenberg[17] nachweisen, daß durch die Lähmung des parasympathischen Systems einerseits die auf Veritol zu erwartende Bradykardie in eine Tachykardie umschlägt und andererseits der Blutdruck höhere Werte erreicht als gewöhnlich.

Unter allen Erscheinungen, die bei der klinischen Anwendung des Veritols auftraten, war es aber das Verhalten des Herzens, und zwar hauptsächlich die Veränderungen der Herzstromkurve, welche viele Autoren veranlaßte, die Brauchbarkeit des Veritols einer kritischen Betrachtung zu unterziehen. Rein und Zipf konnten beim Hund bzw. bei der Katze zeigen, daß Veritol auf das Herz des gesunden Tieres nur eine geringe Wirkung hat, während die Leistung des geschädigten Herzens bedeutend gebessert wird. Mügge geht so weit, den Wirkungsmechanismus des Veritols, d. h. also die Ausschöpfung der venösen Blutdepots und die Vermehrung des Minutenvolumens hauptsächlich durch die Besserung der Herzleistung zu erklären.

Was die Wirkung des Veritols auf das künstlich geschädigte Herz anlangt, so fragt sich wohl Parade[18] mit Recht, ob diese experimentell erzeugten Verhältnisse mit den natürlichen, durch entzündliche und degenerative Prozesse bedingten Herzveränderungen verglichen werden

können. Seine elektrokardiographischen Untersuchungen führen ihn zu dem Schluß, daß die Anwendung des Veritols in jenen Fällen vorsichtig erfolgen müsse, bei welchen die Diagnose eines peripheren Kollapses unsicher sei und möglicherweise eine primäre Herzschädigung der Erkrankung zugrunde liegen könne. Die Veränderungen, die er sowohl bei Gesunden als auch bei Kranken nach einer i. v.-Injektion von 0,01, aber auch schon von 0,004 Veritol im Ekg erhielt, waren: Verlängerung der Überleitungszeit, A. V.-Blockbildungen, Vorhoftachysystolien, ventrikuläre und supraventrikuläre Extrasystolen, flüchtige Bigeminien. Die Tatsache, daß diese Störungen besonders in jenen Fällen stark waren, wo die Frequenz sich verminderte, weniger stark hingegen dort, wo sie sich erhöhte, veranlaßte ihn, in diesen Veränderungen eine Auswirkung des drucksteuernden Mechanismus zu sehen. Unter der Veritoleinwirkung entsteht eine „Dissoziation des Pressorezeptoreneffektes". Es kommt durch Vaguswirkung zu einer Bradykardie, der Blutdruck aber, der durch eine Vermehrung der zirkulierenden Blutmenge bedingt ist, ist unbeeinflußbar, so daß das an sich größere Blutangebot noch unter Verlangsamung der Schlagfolge, also durch Vergrößerung des Schlagvolumens gefördert werden muß, worin Parade eine gewaltige Belastung des Herzens sieht, zumal wenn die oben beschriebenen Rhythmusstörungen dazutreten.

Aschenbrenner und Codas-Thompson[19] sahen nach Veritolgaben von 0,005—0,01 i. v. und 0,02—0,04 i. m. neben einer Sinusbradykardie oft das Auftreten von Interferenzdissoziationen zwischen Sinus- und A. V.-Knoten, welche auch sie als einen Vaguseffekt auffassen. Die Extrasystolen, welche sie ebenfalls häufig in ihren Untersuchungen fanden, erklärten sie dagegen durch ein kompliziertes Zusammenspiel der Vagusreizung, die bekanntlich das Hervortreten tertiärer Reizzentren fördern kann, einerseits und der Wirkung, die das Veritol als sympathikotrope Substanz auf die Reizbildungszentren besitzt, andererseits. Letztere Eigenschaft soll auch die Ursache der eigentümlichen Vergrößerung der Nachschwankung sein, eine Ansicht, die Grosse-Brockhoff und Kaldenberg teilen. Diese Autoren, welche die Veränderung der Veritolwirkung durch Atropin prüften, fanden ohne vorhergehende Atropingabe in einem Falle Blockbildung mit Interferenz von Sinus- und A. V.-Rhythmus, sonst meist eine Sinusbradykardie, welche auf Atropin verschwand. Wenn nach Atropin die Pulsfrequenz gesteigert war, traten manchmal Zeichen von Coronarinsuffizienz auf. Die Vergrößerung der Nachschwankung war unter der Atropinwirkung besonders deutlich.

Reindell, Baurhenn und v. Braunbehrens[20] stellten schwere Veränderungen, wie Senkung des Zwischenstückes oder Auftreten von Extrasystolen nach Veritol nur bei solchen Versuchspersonen fest, die diese Veränderungen ohne Veritol, aber nach körperlicher Anstrengung ebenfalls zeigten, ein Beweis, daß die funktionelle Belastung des Herzens für ihr Entstehen verantwortlich zu machen ist.

Klostermeyer und Jonsson[21] fanden neben der Sinusbradykardie und der Vergrößerung der T-Zacke flüchtige Bigeminien und Vorhof-Kammerdissoziationen. Im Selbstversuch konnten sie nach 0,04 Veritol i. v. eine Verbreitung und Aufsplitterung der Initialschwankung mit Umkehrung der T-Zacke feststellen. Sie sehen darin eine toxische Wirkung des Veritols auf das Herz.

Wenn wir nunmehr zusammenfassend die Ekg-Veränderungen durch Veritol nach ihrer Entstehung einteilen, so sehen wir, daß in erster Linie nervöse Einflüsse auf das Herz als Ursache in Frage kommen. An zweiter Stelle stehen Veränderungen, denen nutritive Störungen des Myokards zugrunde liegen, und drittens ist die Möglichkeit einer direkten toxischen Schädigung des Herzens in Erwägung zu ziehen.

Ob eine solche Toxizität des Veritols für das Herz besteht, wollte ich in elektrokardiographischen Untersuchungen an Tieren feststellen. Das Ergebnis war — kurz gesagt — ein vollkommen negatives. In 18 Versuchen zeigte das Ekg keinerlei Veränderungen, welche als charakteristisch für Veritol hätten angesehen werden können. Im Zuge dieser Versuche bin ich aber zu Ergebnissen gelangt, die, wenn sie auch zu dem ursprünglichen Forschungsvorhaben keine Beziehung hatten, wert erschienen, ausgebaut und festgehalten zu werden. Da es mir darauf ankam, im Ekg toxische Wirkungen des Veritols festzustellen, so wird es nicht wundernehmen, wenn ich von vornherein mit höheren Dosen arbeitete als es in den bisherigen tierexperimentellen Untersuchungen meist geschah. Die Ergebnisse meiner Versuche werden daher auch schwerlich in Parallele mit den früheren Arbeiten zu setzen sein, welche vor allem das Studium der Veritolwirkung in Hinblick auf eine spätere medikamentöse Anwendung zum Ziele hatte.

Methodik.

Als Versuchstiere wurden Katzen mit einem Gewicht von 2—4 kg verwendet, die mit Urethan-Chloralose narkotisiert und künstlich beatmet wurden. Der Blutdruck wurde an der linken Carotis mit Hilfe eines Quecksilbermanometers gemessen, die Herzstromkurve mit dem großen Edelmannschen Saitengalvanometer aufgezeichnet, manchmal unter Vorschaltung des „Tensiocord" der Firma Hellige, Freiburg i. Br. Die Agentien waren in entsprechenden Konzentrationen in der physiologischen Flüssigkeit nach Fleisch[22] gelöst, welche sich — jeweils frisch gemischt — durch eine exakt eingestellte, den physiologischen Verhältnissen angepaßte Wasserstoffjonenkonzentration auszeichnet. Auf Einhaltung dieser Bedingung wurde besonders deshalb Wert gelegt, da es sich bei der Veritolwirkung um die Beeinflussung der venösen Kreislaufabschnitte handelt und die Empfindlichkeit derselben gegen Veränderungen der Wasserstoff-

jonenkonzentration eine feststehende Tatsache ist (s. Gollwitzer-Meier[23]). Die Untersuchungen wurden mit dem Sulfat des Veritols durchgeführt. Die nötigen Versuchsmengen stellte die Wiener Vertretung der Firma Knoll A. G. in dankenswerter Weise zur Verfügung. Die auf Körpertemperatur erwärmten Lösungen wurden in die V. ingularis ext. injiziert, worauf ein wenig Fleisch-Lösung nachgespritzt wurde.

Aus bestimmten Gründen wurde bei einer Reihe von Tieren eine Evisceration in nachstehender Weise vorgenommen: Medianer Laparotomieschnitt, Vorholen des Colon descendens, doppelte Ligatur und Durchschneidung der A. mesenterica inf., wie auch des Colon descendens selbst. Nun wurde das Mesenterium entlang seiner Wurzel kranialwärts bis in die Gegend der A. mesenterica sup. abgetrennt, daraufhin schrittweise die A. mesenterica sup. und die A. coeliaca doppelt ligiert und durchschnitten. Dasselbe geschah mit den im Lig. hepatoduodenale verlaufenden Gebilden. Eine starke Ligatur über den Magen schützte vor Einströmen von Blut aus der A. gastrica sin., wenn diese bei besonders hohem Abgang von der A. coeliaca bei Unterbindung der letzteren nicht miterfaßt worden war Bei dieser Methode sind von den unter der Wirkung der Nn. splanchnic. stehenden Gebilden die Milz und der Magen-Darmtrakt mit Ausnahme seines oralen und aboralen Endes vollständig aus der Zirkulation ausgeschaltet. Die Lebergefäße stehen noch in einer Richtung mit der Blutbahn im Zusammenhang. Für die pharmakologische Untersuchung einer Substanz dürfte dies wohl gegenstandslos sein, da nach Durchschneidung des Lig. hepatoduodenale eine Beeinflussung der Lebergefäße auf dem Blutweg sicher, auf dem Nervenweg höchstwahrscheinlich unmöglich ist.

Ergebnisse.

I.

Die erste Injektion von Veritol hatte regelmäßig eine Blutdrucksteigerung zur Folge, welche ihren Höhepunkt nach $1^1/_2-2^1/_2$ min erreichte.

Tabelle 1.

Versuch Nr.	Datum	Gewicht in kg	Dosis in mg/kg	Blutdruck in mm Hg		Anstieg in mm Hg
				vorher	nachher	
1	31. XII. 1938	2,5	0,1	112	119	7
2	7. II. 1939	2,0	0,3	64	90	26
3	13. II. 1939	3,5	0,4	94	111	17
6	18. III. 1939	2,3	1,2	121	174	53
18	22. V. 1939	2,2	1,4	104	148	44
7	24. III. 1939	4,0	1,5	116	161	45
4	27. II. 1939	3,3	1,8	99	130	31
29	1. VII. 1939	2,7	5,0	125	150	25
19	30. V. 1939	3,0	10,0	48	88	40
30	1. VII. 1939	2,0	10,0	98	163	65

Die Wirkung der verschiedenen Dosen auf das nichteviscerierte Tier bei intaktem Vagus zeigt die Tabelle 1.

Die Tabelle 2 gibt die Blutdruckwerte an, die am eviscerierten Tier mit intaktem Vagus zu erzielen waren. Sie beweist deutlich die bereits von Zipf gemachte Beobachtung, daß die Veritolwirkung auch nach Evisceration voll zur Geltung kommt. Diese Tatsache muß eigentlich merkwürdig erscheinen. Wissen wir doch, daß die Blutdrucksteigerung auf Veritol durch eine Vermehrung der zirkulierenden Blutmenge infolge Entleerung der venösen Blutdepots, und zwar vor allem der großen Blutspeicher des Splanchnicusgebietes zustande kommt.

Tabelle 2.

Versuch Nr.	Datum 1939	Gewicht in kg	Dosis in mg/kg	Blutdruck in mm Hg		Anstieg in mm Hg
				vorher	nachher	
23	17. VI.	3,8	0,8	54	82	28
12	3. IV.	3,0	1,0	92	178	86
13	5. IV.	3,0	1,0	80	138	58
22	9. VI.	3,0	1,0	60	88	28
14	4. V.	2,8	1,1	63	94	31
15	8. V.	2,7	1,1	83	140	57
25	20. VI.	2,7	1,1	85	119	34
11	31. III.	3,0	2,0	62	112	50
9	29. III.	2,8	2,2	?	?	43

Der erhobene Befund ist um so interessanter, als Steinmann[24] gezeigt hat, daß unter physiologischen Bedingungen nur der Milz und der Leber, in geringerem Maße auch den Mesenterialgefäßen eine Speicherfunktion zukommt, während die Hautgefäße im Gegensatz zu früheren Angaben keine Rolle spielen. Nun muß aber betont werden, daß dies nach den Angaben Steinmanns selbst nur für den unter Grundumsatzbedingungen stehenden Organismus gilt. Schon Veränderungen, die rein physiologischer Natur sind, wie z. B. das Aufrichten aus der liegenden Stellung in die sitzende, bewirken bereits eine Verschiebung des Reserveblutes in die Hautgefäße. Das eviscerierte Tier bietet gewiß keine physiologischen Verhältnisse; man könnte denken, daß das Blut, welches durch die Manipulation aus dem Splanchnikusgebiet ausgepreßt wird, von den Haut-Muskelgefäßen aufgenommen und aus diesen durch die Wirkung des Veritols entleert wird. Daß Veritol auf die Haut-Muskelgefäße eine Wirkung besitzt, hat Zipf nachgewiesen.

Die Wirkung des Veritols nach Vagotomie, welche von verschiedenen Autoren verschieden angegeben wird, zeigen einige Versuche in Tabelle 3 (beim nichteviscerierten Tier) und Tabelle 4 (beim eviscerierten Tier).

Aus den angeführten Versuchen ergibt sich also, daß die erste Injektion von Veritol regelmäßig eine mehr minder starke Blutdrucksteigerung bewirkt. Bei den einzelnen Autoren wird die Wirkung einer Veritol-

Tabelle 3.

Versuch Nr.	Datum 1939	Gewicht in kg	Dosis in mg/kg	Blutdruck in mm Hg		Anstieg in mm Hg
				vorher	nachher	
28	27. VI.	4,0	0,1	136	170	36
27	26. VI.	3,7	0,2	111	178	67
31	22. XII.	2,5	0,2	132	148	16
26	23. VI.	3,7	2,0	108	205	97

Tabelle 4.

Versuch Nr.	Datum 1939	Gewicht in kg	Dosis in mg/kg	Blutdruck in mm Hg		Anstieg in mm Hg
				vorher	nachher	
21	1. VI.	2,5	1,2	75	166	91
20	31. V.	2,5	3,6	82	122	40

injektion verschieden angegeben. Zipf, welcher an Katzen in Numalnarkose arbeitete, erhielt die stärkste Wirkung bei Veritoldosen von 0,2 bis 0,3 mg/kg, während bei mir diese Mengen noch nicht das Maximum an Wirkung zu erreichen scheinen. Möglicherweise spielt dabei die Art der Narkose eine Rolle, dürfte doch nach Zipf die Urethannarkose die Veritolwirkung abschwächen. Weiters gibt Zipf an, daß Dosen von 1,0—3,0 mg/kg häufig wirkungslos seien oder gar eine Blutdrucksenkung bewirken. Lindner fand an Katzen in Pernoktonnarkose die stärkste Wirkung bei 0,3—1,0 mg/kg. Mit Dosen über 1,25 mg/kg sei kein stärkerer Effekt mehr zu erzielen, eine vorübergehende Drucksenkung könne auftreten. Eichler beobachtete an Katzen in Urethan-Chloralosenarkose selbst bei hohen Dosen wie 5,0 mg/kg keine Wirkungsabschwächung oder -umkehr. Immerhin gibt auch er an, daß die Drucksteigerung in diesem Dosenbereich nicht mehr proportional mit der verabreichten Menge gehe.

In den Beobachtungen mehrerer Autoren — denen sich auch meine Ergebnisse in Tabelle 1 anschließen lassen — scheint sich folgende Eigenschaft des Veritols zu manifestieren: daß nämlich das Veritol in bezug auf seine blutdrucksteigernde Wirkung eine Art „Optimaldosis" besitzt, sei es, daß eine Überschreitung derselben keinen stärkeren Effekt mehr hervorbringt oder daß gar eine Wirkungsabschwächung oder -umkehr eintritt.

In den folgenden zwei Versuchen sollte dieses Verhalten des Veritols untersucht werden. Im Versuch 17 vom 16. Mai 1939 wurde bei einem eviscerierten Tier mit intaktem Vagus eine langsame Dauerinfusion einer 0,1 %igen Veritollösung mit Hilfe einer Bürette gemacht, welche oben mit einem durchbohrten Gummistopfen verschlossen war, durch welchen ein dünnes Glasrohr in das Lumen der Bürette hineinragte. Auf diese Art war eine Mariottesche Flasche entstanden, die ein Einfließen der Veritollösung unter konstantem Druck gewährleistete. Es kam zu einer allmäh-

lichen Drucksteigerung von 88 auf 140 mm Hg, also um 52 mm. Dieser Maximalwert war in 5 Minuten erreicht, bis dahin waren 1,6 mg/kg Veritol eingeflossen. In den nächsten 6 Minuten, in denen weitere 1,92 mg/kg zugeführt wurden, zeigte der Blutdruck eine leicht sinkende Tendenz von 140 auf 132 mm Hg. Die Dosis von 1,6 mg/kg, welche somit jene Menge darstellen soll, die den größtmöglichen Effekt erzielt, ist sicher zu hoch gegriffen, da ja bekanntlich der Druckanstieg auf Veritol allmählich erfolgt und daher in der beschriebenen Versuchsanordnung die Infusion dem Druckanstieg vorauseilen muß.

Um diese Fehlerquelle auszuschalten, wurde bei Versuch Nr. 31 vom 22. Dezember 1939 eine andere Versuchsanordnung getroffen. Einer 2,5 kg schweren Katze (ohne Evisceration, Vagi durchschnitten) wurden fortlaufend Dosen von 0,2 mg/kg Veritol zugeführt (je 1 ccm einer 0,05 %igen Veritollösung aus einer Bürette, worauf reine Fleisch-Lösung aus einer zweiten Bürette, auf welche mittels Wechselhahn umgeschaltet werden konnte, nachgespült wurde). Dabei wurde jeweils mit der nächsten Injektion gewartet, bis die Drucksteigerung durch die vorangegangene Injektion ihren Höhepunkt gerade erreicht hatte. Aus der Tabelle 5 ist das Ergebnis zu ersehen.

Tabelle 5.

Nr. der Injektion	Zeitraum zwischen zwei Injektionen	Drucksteigerung
1	—	16 mm (von 132 auf 148)
2	100 Sek.	8 „ („ 148 „ 156)
3	105 „	2 „ („ 156 „ 158)
4	100 „	3 „ („ 158 „ 161)
5	100 „	−1 „ („ 161 „ 160)
6	95 „	0 „
7	105 „	−1 „ („ 160 „ 159)

Während also offenbar eine Dosis von 0,8 mg/kg eine stärkere Blutdrucksteigerung hervorbringt als 0,6 mg/kg, ist 1,0 mg/kg nicht wirksamer als 0,8 mg/kg. In dem vorliegenden Falle scheint also 0,8 mg/kg die „optimale Dosis" von Veritol zu sein.

Daß es sich dabei nicht um eine Tachyphyllaxie handelt, beweist der Versuch Nr. 28. Nach einer Injektion von 0,1 mg/kg (s. Tabelle 3) wurden hier ebenfalls fortlaufend Dosen von 0,2 mg/kg zugeführt. Es wurde aber immer gewartet, bis die Wirkung der vorangegangenen Injektion jeweils abgeklungen war, was nach durchschnittlich 10 Minuten der Fall war. Nach einer Gesamtzufuhr von 2,3 mg/kg wurde der Versuch abgebrochen, es konnte aber selbst durch die letzte Injektion noch eine deutliche Drucksteigerung erzielt werden.

Unter der Voraussetzung der Richtigkeit obiger Anschauung ist anzunehmen, daß eine zweite Injektion bei einem Tier, das noch unter der

Einwirkung einer Veritolmenge steht, die mindestens der „Optimaldosis" entspricht, keine blutdrucksteigernde Wirkung hat, während eine neuerliche Blutdrucksteigerung möglich sein muß, wenn die erste Injektion nicht entsprechend groß war. Da wir ungefähr wissen, in welcher Größenordnung sich die „Optimaldosis" bewegt, erscheint es interessant, die verschiedenen Versuche in bezug auf die Wirkung der zweiten Injektion zu vergleichen. In der Tabelle 6a sind die Versuche angeführt, bei denen die zweite Injektion eine neuerliche Blutdrucksteigerung bewirkte, in der Tabelle 6b jene, bei denen dies nicht der Fall war.

Tabelle 6a.

Versuch Nr.	Dosis der 1. Injektion	Dosis der 2. Injektion	Versuch Nr.	Dosis der 1. Injektion	Dosis der 2. Injektion
1	0,1	0,1	2	0,3	0,6
28	0,1	0,2	3	0,4	1,7
27	0,2	0,1	23	0,8	0,8
31	0,2	0,2	12	1,0	1,0

Tabelle 6b.

Versuch Nr.	Dosis der 1. Injektion	Dosis der 2. Injektion	Versuch Nr.	Dosis der 1. Injektion	Dosis der 2. Injektion
13	1,0	1,0	11	2,0	1,0
22	1,0	1,0	26	2,0	2,0
14	1,1	1,1	9	2,2	3,3
15	1,1	1,1	20	3,6	0,6
25	1,1	0,5	29	5,0	0,5
18	1,4	1,4	19	10,0	2,0
7	1,5	1,5	30	10,0	1,0
4	1,8	1,8			

Es scheint somit in der Tat in dem erwarteten Bereich trotz der verschiedenen Versuchsbedingungen ein gesetzmäßiger Grenzwert zu bestehen, welcher jene Veritoldosis darstellt, der die größtmögliche blutdrucksteigernde Wirkung zukommt.

II.

Schon die von manchen Autoren beobachtete Tatsache, daß große Dosen von Veritol unter Umständen eine geringere Wirkung haben können als kleinere, läßt vermuten, daß der Veritolwirkung auch eine blutdrucksenkende Komponente zukommt. Zipf und Lindner sahen sogar manchmal, wie bereits erwähnt, eine richtige Blutdrucksenkung auf Veritol. Soweit sich diese Angaben auf die erste Injektion beziehen, wurden sie durch meine Versuche nicht bestätigt. Um so richtiger erscheint — wie gleich unten gezeigt wird — die Feststellung Zipfs, daß bei wiederholter Injektion von Veritol die pressorische Wirkung in eine depressorische

umgekehrt werden kann. Zipf bezeichnet diese Blutdrucksenkung als eine sekundäre Erscheinung, hervorgerufen durch Dosen, die „bereits im toxischen Bereich liegen".

Die weitere Durchführung meiner Versuche zeigte nun, daß solche Drucksenkungen, die unter ganz bestimmten Voraussetzungen zustande kommen, zu der charakteristischen Wirkungsweise des Veritols gehören: Wenn ein Versuchstier bereits eine so große Dosis Veritol erhalten hat, daß eine neuerliche Injektion nicht mehr drucksteigernd wirkt, führt eine Dosis, die nicht zu klein sein darf, regelmäßig zu einer meist flüchtigen Drucksenkung. Der Schwellenwert liegt im allgemeinen zwischen 0,5 bis 1,0 mg/kg.

Als typisches Beispiel mögen in Abb. 1 Kurvenbilder aus dem Versuch Nr. 13 gezeigt werden. Um 12.08 Uhr wurde eine Dosis von 1,0 mg/kg (1)

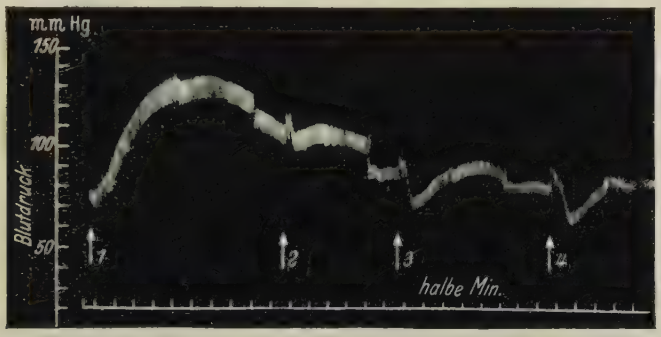


Abb. 1. Blutdruck in mm Hg, Zeitangabe in halben Minuten.

gegeben, welche eine Drucksteigerung zur Folgerung hatte. Eine zweite Injektion von 1,0 mg/kg um 12.15 Uhr (2) hatte bereits eine leicht depressorische Wirkung, während zwei weitere Injektionen von 1,0 mg/kg um 12.21 Uhr und 12.28 Uhr (3, 4) eine deutliche Drucksenkung herbeiführten. Eine ähnliche, wenn auch weniger ausgeprägte Blutdrucksenkung konnte im Laufe dieses Versuchs noch neunmal ausgelöst werden.

In der folgenden Tabelle 7 soll gezeigt werden, wie sich die blutdrucksenkende Wirkung am eviscerierten und am nichteviscerierten Tier verhält. In der ersten, zu jedem Versuch gehörenden waagrechten Zeile sind die Dosen in der Reihenfolge ihrer Verabreichung in mg/kg angegeben. In der zweiten Zeile ist die Drucksenkung in mm Hg verzeichnet, die durch die jeweilige Injektion hervorgerufen wurde. Selbstverständlich war jedem Tier vorher eine so große Menge Veritol gegeben worden, daß eine Drucksteigerung ausblieb.

Wir sehen aus dieser Tabelle, daß die Werte der Blutdrucksenkung beim eviscerierten Tier meistens bedeutend höher sind als beim nichteviscerierten. Weiters können wir feststellen, daß zwischen der Dosis und

Tabelle 7.

Mit Evisceration								Ohne Evisceration						
Versuch Nr.	I	II	III	IV	V	VI	VII	Versuch Nr.	I	II	III	IV	V	VI
8	1,7 8	4,3 35	4,3 29	4,3 19				2	1,5 5	0,6 —				
9	3,3 12	2,2 10	2,2 6	11,0 19				3	0,9 1	0,9 —	1,7 2	3,4 8	3,4 5	
11	1,0 15	0,5 8						4	1,9 6	0,9 —				
12	1,0 18	1,0 20						7	1,5 7	2,3 10	1,9 7			
13	1,0 4	1,0 16	1,0 16	1,0 12				18	1,4 4	1,4 9	1,4 7	1,4 3	1,4 8	1,4 4
14	1,1 8	1,1 11						19	2,0 4	2,0 5	2,0 9	3,0 12		
15	1,1 22							26	2,0 9	2,0 17	0,5 1			
22	1,0 7	1,0 5	1,0 5	1,0 5				29	0,5 —	1,0 5	0,5 —	0,8 4	0,5 1	
25	0,5 —	1,1 7	1,1 8	1,1 9	0,55 4	2,2 17	5,5 26	30	1,0 7	0,5 6	0,3 6	0,5 4	0,3 2	

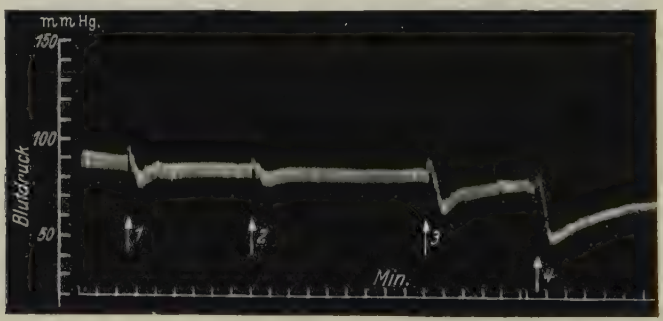


Abb. 2. Blutdruck in mm Hg, Zeitangabe in Minuten.

der Stärke der Blutdrucksenkung im allgemeinen eine gerade Proportion besteht. Besonders deutlich zeigt dies der Versuch Nr. 25, dessen Blutdruckkurve die Abb. 2 teilweise wiedergibt: Bei 1, 2, 3 und 4 war 1,1, 0,55, 2,2 und 5,5 mg/kg Veritol gegeben worden. Die Werte der hervorgerufenen Blutdrucksenkungen sind aus der Tabelle 7 zu entnehmen. Wenn also die Stärke der Blutdrucksenkung der injizierten Dosis proportional ist, so erscheint es berechtigt, die durchschnittliche Wirkung einer bestimmten Dosis Veritol zu berechnen. Wir finden in der Tabelle 7, daß 1 mg/kg Veritol beim nichteviscerierten Tier eine durchschnittliche Drucksenkung von 3,6 mm, beim eviscerierten Tier eine solche von 6,4 mm bewirkt.

In der Tabelle 7 ist ferner zu bemerken, daß bei gleichbleibender Dosis die erste Drucksenkung häufig geringer ausfällt als die folgenden, ebenso daß nach mehreren Injektionen die Wirkung wieder schwächer werden kann.

Da man bei jeder blutdrucksenkenden Substanz an eine vagotrope Wirkung denken muß, wurden diesbezüglich Versuche unternommen. Daß die Durchschneidung der Vagi die Drucksenkung nicht verhindert, beweist der Versuch Nr. 26, bei welchem am Beginn die beiden Vagi durchtrennt worden waren. Daß die Vagotomie nicht einmal die Wirkung herabsetzt, geht aus den Versuchen Nr. 18, 19, 22 und 25 hervor, wo die Vagi zwischen den in der Tabelle 7 durch starke Striche getrennten Injektionen durchschnitten wurden. Ebensowenig wird die blutdrucksenkende Wirkung

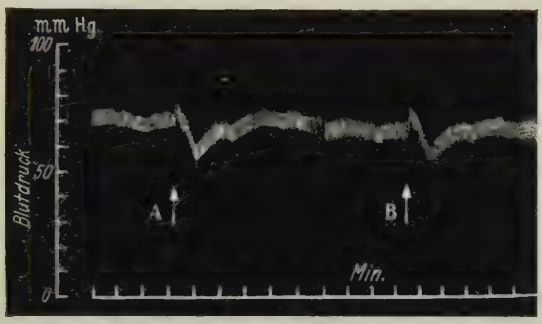


Abb. 3. Blutdruck in mm Hg, Zeitangabe in Minuten.

durch Atropin aufgehoben, wie die Abb. 3 aus dem Versuch Nr. 13 zeigt. Um 12.38 Uhr war 1,0 mg/kg gegeben worden (A). Es ist dies die letzte in Tabelle 7 verzeichnete Injektion.

Nachdem nun dem Tier 0,2 mg/kg Atropinum sulfuricum verabreicht worden war, wurde um 12.56 Uhr abermals 1,0 mg/kg Veritol gespritzt (B). Wie wir sehen, hat sich die Wirkung in keiner Weise verändert.

Besprechung der Ergebnisse.

In den oben beschriebenen Versuchen konnte festgestellt werden, daß das Veritol, wenn es schon einmal in einer bestimmten Menge gegeben wurde, keine weitere Drucksteigerung verursacht. Wenn nun in diesem Zustand neuerlich Veritol, und zwar in einer gewissen Mindestdosis zugeführt wird, so kommt es stets zu einer Blutdrucksenkung, die meist nach kurzer Zeit verschwindet. Da es sich dabei offenbar nicht um eine zufällige Nebenerscheinung handelt, sondern um eine typische Wirkungsweise des Veritols, so erscheint es angebracht, die verschiedenen Möglichkeiten ihrer Entstehung zu erörtern. Daß das Veritol eine vagotrope Komponente hat, welche erst nach dem Wegfall der drucksteigernden Wirkung zur Geltung

kommt und die Drucksenkung herbeiführt, ist auf Grund der Ergebnisse nach Vagotomie und Atropinisierung abzulehnen. Eine derartige Annahme wäre schon nach der Arbeit Eichlers unwahrscheinlich, welche eine dem Acetylcholin antagonistische Wirkung des Veritols zeigte. Weiters wäre eine negativ inotrope Wirkung auf das Herz denkbar, d. h. also, daß die Blutdrucksenkung kardial bedingt wäre. Aber auch diese Vorstellung dürfte kaum richtig sein, denn die kurze Dauer und die wiederholte Reproduzierbarkeit der Blutdrucksenkung spricht wohl gegen eine toxische Schädigung des Herzens. Eher wäre es noch denkbar, daß die depressorische Wirkung des Veritols auf die gleiche Art zustande kommt, wie sie Mügge[25] für das Ephedrin nachgewiesen hat, nämlich durch eine Kontraktion der Coronargefäße. Dem steht aber einerseits der negative elektrokardiographische Befund entgegen, während andererseits Literaturangaben stets die deutliche kranzgefäßerweiternde Wirkung des Veritols betonen (Mügge findet z. B. 25—40% Steigerung der Durchblutung der Coronargefäße). Per exclusionem kommt also als Ursache der Blutdrucksenkung nur eine direkte Gefäßwirkung in Frage. Diese Auffassung findet ihre wesentliche Stütze in dem verschiedenen Verhalten des Splanchnicusgebietes einerseits und der übrigen Gefäße andererseits.

Im folgenden möge ein Gedanke entwickelt werden, der es vielleicht ermöglicht, die Eigentümlichkeiten des Veritols zu erklären, ohne eine Dissoziation seiner Wirkungsweise in antagonistische Komponenten annehmen zu müssen, vielmehr sowohl seine blutdrucksteigernde als auch seine blutdrucksenkende Wirkung als Folge ein und desselben Mechanismus darzulegen.

Wir wissen, daß die Blutdrucksteigerung durch Veritol nicht die Folge einer Kontraktion der Gefäße des arteriellen Schenkels ist, deren Tonisierung beim Tier nur eine geringe Rolle spielt. Sie entsteht vielmehr durch Steigerung des Minutenvolumens infolge Erhöhung des Blutangebotes an das Herz. Dies kann nur durch Auspressen des Depotblutes aus den Venen zustande kommen, welche nach Gollwitzer-Meier geradezu das Organ der Blutmengenregulierung sind. Kurz gesagt: Das Veritol besitzt eine geringe konstriktorische Wirkung auf die Arterien und eine um so größere auf die Venen. Nun kann das Blut in den Venen in zweierlei Form vorhanden sein: entweder fließend oder stagnierend. (Es wird der Sachverhalt bei dieser Darstellungsweise bewußt nach zwei extremen Richtungen hin schematisiert.) Je nachdem, ob in einer Vene der eine oder der andere Zustand besteht, wird auch der Druck in ihr ein verschiedener sein: Bei einer ruhenden Blutsäule herrscht in dem Gefäß begreiflicherweise nur der hydrostatische Druck. Befindet sich das Blut in Strömung, so kommt zu diesem noch der hydrodynamische Druck dazu. Mit anderen Worten: der Druck, der in den Venen, die hauptsächlich Depotblut enthalten, herrscht, ist geringer als der in den Venen, in denen das Blut sich in rascher Zirkulation befindet.

Wenn nun das Veritol seine Wirkung entfaltet, daher zu einer Venokonstriktion führt, so muß der steigende Tonus der Venenwand den auf ihr lastenden Druck überwinden. Das geschieht in erster Linie dort, wo dieser Druck gering ist, also eben an den Depotblut enthaltenden Venen. Das Lumen der Venen wird enger, das Blut wird verdrängt und weicht in der Richtung des geringeren Widerstandes gegen das Herz aus. Das Blutangebot an das Herz steigt und damit das Minutenvolumen. In der weiteren Folge gelangt das in die Arterien geworfene Blut über die Kapillaren wieder in die Venen zurück, aber nicht, um in diesen, die noch unter dem tonisierenden Einfluß des Veritols stehen, zu versacken, sondern um in rascher Zirkulation wieder dem Herzen zuzuströmen.

Einer bestimmten Dosis Veritol wird es auf diese Weise gelingen, das gesamte Depotblut zu mobilisieren und in die Form des zirkulierenden Blutes überzuführen. Wird in diesem Zustand eine neuerliche Dosis Veritol zugeführt, die gerade imstande wäre, den Druck in den Venen mit stagnierendem Blut zu überwinden, so muß sie wirkungslos sein, da ja ein geeigneter Angriffspunkt fehlt. Ist die Dosis aber so groß, daß sie fähig ist, auch den Druck in den Venen mit zirkulierendem Blut zu überwinden, so tritt genau das Gegenteil von früher ein: Es kommt zu einer Drosselung des Blutstromes, zu einer Verminderung des Blutangebotes, einer Herabsetzung des Minutenvolumens und einem Absinken des arteriellen Druckes. Die Wirkung des Veritols ist also die Resultierende zweier entgegengesetzt verlaufender Vorgänge: Einerseits Auspressen der Venen mit stagnierendem Blut und Vermehrung des Blutangebotes an das Herz, andererseits Drosselung der Venen mit fließendem Blut und Verminderung des Blutangebotes. Entscheidend dafür, daß die erste Komponente (soweit sie überhaupt vorhanden ist!) die zweite überwiegt und Veritol daher eine blutdrucksteigernde Substanz ist, ist der verschiedene Druck, der in den Venen des einen und des anderen Typus herrscht. Wir können aber verstehen, warum es demnach bei Veritol eine „Optimaldosis" geben muß: Dies wird jene Dosis sein, die gerade imstande ist, die Venen des ersten Typus maximal zu kontrahieren, ohne die des anderen wesentlich zu beeinflussen. Ist die verabreichte Dosis größer als die „Optimaldosis", so wird trotzdem immer eine Blutdrucksteigerung auftreten, soweit Depotblut vorhanden ist, denn die Wirkung auf dieses ist aus Gründen des Druckes die stärkere. Es braucht aber nicht zu verwundern, wenn Abschwächungen des Effektes beobachtet werden. Erst wenn kein Depotblut mehr vorhanden ist, wird entweder keine Wirkung auftreten oder — bei genügend großen Dosen — es zu einer Drucksenkung durch Drosselung des Rückflusses kommen. Auch die Tatsache, daß die Blutdrucksenkung am eviscerierten Tier stärker ist als ohne Evisceration, könnte eine Erklärung finden in der von Zipf gemachten Beobachtung, daß die Wirkung des Veritols auf die Mesenterialgefäße eine sehr geringe ist. Es wird daher bei erhaltenem Mesenterialkreislauf die Drosselung niemals so hochgradig sein können als nach Ausschaltung

desselben. Abgesehen natürlich davon, daß durch Verkleinerung der Strombahn jede Dosis relativ größer wird.

Zusammenfassung.

1. Es werden an Katzen elektrokardiographische Untersuchungen vorgenommen, ob durch Veritol eine direkte toxische Schädigung des Herzens möglich ist. Diese Versuche haben ein negatives Ergebnis.

2. Im Zuge dieser Untersuchungen wird festgestellt, daß es bei Veritol eine Art „Optimaldosis" gibt, nach deren Verabreichung eine weitere Drucksteigerung durch eine neuerliche Injektion ausbleibt.

3. In dieser Phase bewirkt jede größere Dosis Veritol eine meist kurz dauernde Blutdrucksenkung, welche am eviscerierten Tier deutlicher ist als am intakten.

Literatur.

1) Biehler, W.: Z. exper. Med. **101**, 62 (1937). — 2) Eichler, C.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 429 (1937). — 3) Heymans, C., u. F. Bayless: Arch. internat. Pharmacodynam. **56**, 319 (1937). — 4) Lindner, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 444 (1937). — 5) Mügge, H.: Klin. Wschr. **16**, 1241 (1937). — 6) Rein, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 617 (1937). — 7) Zipf, K.: Ebenda **189**, 679 (1938). — 8) Dreyer, F.: Chirurg **1937**, S. 726. — 9) Schneider, D.: Klin. Wschr. **16**, 736 (1937). — 10) Dieckhoff, J.: Ebenda **16**, 1154 (1937). — 11) Robbers, H.: Münch. med. Wschr. **1937**, S. 819. — 12) Stumpf, A.: Ebenda S. 1869. — 13) Tümmerhoff, F., u. G. Schlommka: Med. Welt **51**, 1811 (1938). — 14) Meyer, F., u. W. Spiegelhoff: Klin. Wschr. **16**, 1342 (1937). — 15) Sturm, A., u. H. Voges, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 331 (1939). — 16) Schneider, H., u. H. Kopp: Klin. Wschr. **16**, 1672 (1937). — 17) Grosse-Brockhoff, F., u. F. Kaldenberg: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 383 (1938). — 18) Parade, G. W.: Klin. Wschr. **17**, 479 (1938). — 19) Aschenbrenner, R., u. A. Codas-Thompson: Z. klin. Med. **133**, 483 (1938). — 20) Reindell, H., W. Baurhenn u. H. v. Braunbehrens: Ebenda **135**, 347 (1939). — 21) Klostermeyer, W., u. B. Jonsson: Klin. Wschr. **16**, 1724 (1937). — 22) Fleisch, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **94**, 22 (1922). — 23) Gollwitzer-Meier, K.: Klin. Wschr. **10**, 817 (1931). — 24) Steinmann, B.: Ebenda **17**, 1641 (1938). — 25) Mügge, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **165**, 230 (1932).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Über die Wertbestimmung von Digitalissuppositorien.

Von

H. Hofmann.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 4. Juli 1940.)

1.

Gelegentlich einer gutachtlichen Entscheidung wurden wir vor die Aufgabe gestellt, den Gehalt an wirksamer Digitalissubstanz in einer Partie handelsüblicher Stuhlzäpfchen, nach deren klinischem Gebrauch Erscheinungen von Digitalisvergiftung beobachtet worden waren, zu bestimmen. In der Literatur finden sich keine Berichte über die Wertbestimmung von Digitalissuppositorien. Der Grund hierfür dürfte in der Tatsache zu suchen sein, daß eine Auswertung von digitalishaltigen Zäpfchen praktisch nur in den seltenen Fällen notwendig wird, in denen die Frage nach einer eventuellen Überdosierung bei der Herstellung des Präparates zu entscheiden ist.

In dem uns zur Untersuchung vorliegenden Fall handelte es sich um ein mit 150 Froschdosen pro Suppositorium (FD/S) deklariertes Material, in dem die wirksame Digitalissubstanz in Form eines reinen Glykosidgemisches enthalten war. Die Fabrikationsnummer der beanstandeten Suppositorien war bekannt und der bereits im Handel befindliche Teil des Materials dieses Herstellungsganges zurückgezogen worden. Die Herstellerfirma hatte uns nicht nur genaue Angaben über Zusammensetzung und Herstellungsgang der Zäpfchen gemacht, sondern auch das für die Fabrikation benutzte Rohmaterial zur Verfügung gestellt. Die Suppositorien enthielten neben der aus Kakaobutter und weißem Wachs bestehenden Grundmasse das oben erwähnte Digitalisglykosidgemisch (DG), sowie weitere Zusätze zur Konservierung und Anästhesierung.

2.

Wir haben zunächst versucht, die Wertbestimmung im biologischen Versuch durchzuführen. Es sei vorausgeschickt, daß diese Untersuchungen zu keinem befriedigenden Resultat führten. Wir berichten deshalb über diese Versuchsreihen nur in zusammenfassender Form.

Bei der Auswertung des alkoholischen Extraktes der Suppositorien nach einer der amtlichen Wertbestimmung der Blätterdroge[1] analogen Methode beobachteten wir, daß am Grasfrosch die Digitaliswirkung durch die anderer Substanzen überdeckt wurde. Durch Kontrollversuche konnte nachgewiesen werden, daß es sich hierbei um die Wirkung des Konservierungs- bzw. Anästhesierungsmittel handelte, die mit in den Extrakt übergehen. Es gelang uns nicht, die Wirkung dieser Stoffe von der der Digitalis abzutrennen. Ähnliche Beobachtungen machten wir bei Versuchsreihen, in denen wir uns bemühten, die Wertbestimmung durch Injektion der verflüssigten Suppositorienmasse, deren Schmelzpunkt durch Versetzen mit einem höheren Kohlenwasserstoff bzw. einem Öl soweit erniedrigt wurde, daß sie bei Zimmertemperatur flüssig blieb, durchzuführen. Auch in diesen Versuchsreihen benutzten wir Grasfrösche, die Injektion erfolgte in die Lymphsäcke.

Die Versuche waren derart angeordnet, daß sowohl der Extrakt der beanstandeten Suppositorien wie auch der einer selbsthergestellten Masse mit bekanntem Glykosidgehalt an einem homogenen Tiermaterial ausgewertet wurde. Es ergab sich, daß der Valor der zu untersuchenden Zäpfchen größer war als der selbsthergestellter Suppositorien mit einem Gehalt von 150 FD/S. Eine exakte Wertbestimmung gelang uns nicht.

Wir versuchten weiterhin eine Auswertung am curaresierten Grasfrosch (Lendle[2]) durchzuführen, dem die verflüssigte Suppositorienmasse peroral zugeführt wurde. Auch diese Versuche führten nicht zu dem gewünschten Erfolg. Nach der Zugabe von 1% Lecithin ex ove, die nach Rapp[3] und Schroff[4] zu einer Verbesserung der Resorption führt (zit. nach Weese[5]), beobachteten wir in diesen Versuchen keine Veränderung des Wirkungsbildes.

Da nach den Ergebnissen dieser Untersuchungen eine exakte Gehaltsbestimmung im biologischen Versuch nicht durchführbar zu sein schien, haben wir die Wertbestimmung mit Hilfe einer chemischen Methode durchgeführt.

3.

Unter den zahlreichen chemischen Methoden zum Nachweis von Digitaliswirkstoffen schien von vornherein für einen quantitativen Nachweis die Baljetsche Farbreaktion mit pikrinsaurem Natrium[6] am besten geeignet zu sein. Das Verfahren der quantitativen Bestimmung von Digitalisglykosiden mit Hilfe dieser Reaktion, das insbesondere von Knudson und Dresbach[7] entwickelt wurde, ist im Laufe der letzten

[1] Vorschriften über die amtliche Prüfung d. Fol. dig.-Fingerhutblätter. Kommentar z. DAB I. Bd., S. 645. Berlin, Julius Springer, 1928. — [2] Lendle, L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **109**, 35 (1925). — [3] Rapp, R.: Pharmaz. Ztg. **70**, 218 (1926). — [4] Schroff, C.: Wchbl. d. Z. d. K. K. Ges. d. Ärzte in Wien **1864**, S. 381. — [5] Weese, H.: Digitalis. Thieme 1936, S. 53. — [6] Baljet, H.: Pharmaz. Weekbl. **1918**, S. 457; Schweiz. Apoth. Z. **56**, 71 (1918). — [7] Knudson, A., u. M. Dresbach: J. Pharmacol. (Am.) **19**, 268 (1922); **20**, 205 (1922).

Jahre Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Wir wissen heute, daß diese Reaktion nicht streng spezifisch gegenüber Digitalisglykosiden ist, sondern daß sie, an die ungesättigte Laktongruppe der Genine gebunden (Jacobs[8], Lendle und Schmelzer[9], Neumann[10]), auch von anderen Substanzen mit aktivem H-Atom nach Art der Jaffeschen Reaktion gegeben wird. Es hat sich aber erwiesen, daß die Reaktion zur quantitativen Bestimmung von Glykosiden bzw. Glykosidgemischen hervorragend geeignet ist. In einer größeren Reihe von Arbeiten, insbesondere aus der Lendleschen Schule, wurde die Baljet-Reaktion zur quantitativen Bestimmung von Digitalisglykosiden herangezogen und hat sich ausgezeichnet bewährt[11–17].

Wie schon oben erwähnt, handelte es sich in dem uns zur Untersuchung vorliegenden speziellen Fall um ein Suppositorium, in dem die wirksame Digitalissubstanz in Form eines reinen Glykosidgemisches enthalten war. Aus diesem Grunde erschien hier die Benutzung der Baljet-Reaktion für die Wertbestimmung besonders gerechtfertigt. Ein Vorversuch zeigte, daß der alkoholische Extrakt der zu untersuchenden Suppositorien eine starke Farbreaktion mit pikrinsaurem Natrium gab. Der Vergleich der kolorimetrischen Reaktion des Extraktes eines aus der Apotheke bezogenen Zäpfchens derselben Herstellerfirma mit der des beanstandeten Materials ergab, daß die Farbreaktion derartiger, annehmbarer Weise richtig dosierter Suppositorien ganz bedeutend geringer war als die unseres Untersuchungsmaterials. Die weitere Untersuchung zeigte, daß keiner der Bestandteile der Zäpfchen, außer dem DG die Baljet-Reaktion gab, bzw. die Farbreaktion im Verlauf einer Beobachtungszeit von 60 Minuten bei 19° beeinflußte. Die im Vorversuch ermittelte stärkere Farbreaktion des beanstandeten Materials war demnach sicher durch einen Mehrgehalt an Digitalisglykosiden bedingt, und es war weiterhin damit erwiesen, daß die Wertbestimmung mit Hilfe der Baljet-Reaktion in dem vorliegenden Falle durchführbar sein mußte.

Die kolorimetrische Auswertung erfolgte auf folgende Weise: Das zu untersuchende Material wurde mit Alc. abs. (12,0 ccm/S) am Rückflußkühler 30 Minuten erhitzt, danach 12 Stunden im Kühlraum aufbewahrt, filtriert und mit gleichen Teilen des Filtrats und alkalischer Pikrinsäurelösung (95,0 ccm 1%ige Pikrinsäure + 5,0 ccm 10%ige NaOH) die Baljet-Reaktion angestellt. Die kolorimetrische Bestimmung erfolgte gleichmäßig in allen Versuchen nach 24 Minuten bei 19°.

In Übereinstimmung mit Beobachtungen von Neumann[10] und Hagemeier[13] fanden wir, daß die Zeit, in der das Maximum der Farb-

[8] Jacobs, A.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **19**, 389 (1922). — [9] Lendle, L., u. W. Schmelzer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 622 (1935). — [10] Neumann, W.: Hoppe-Seylers Z. **240**, 241 (1936). — [11] Lendle, L., u. F. Pusch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 550 (1935). — [12] Hauschild, F.: Ebenda **179**, 17 (1935). — [13] Hagemeier, A.: Ebenda **194**, 195 (1940). — [14] Haarmann, W., A. Hagemeier u. L. Lendle: Ebenda **194**, 205 (1940). — [15] Korfmacher, K.: Ebenda **194**, 217 (1940). — [16] Haarmann, W., K. Korfmacher u. L. Lendle: Ebenda **194**, 229 (1940). — [17] Dybing, O., u. H. Holzhausen: Ebenda **194**, 248 (1940).

reaktion erreicht wird, sowohl von der Glykosidkonzentration als auch von der Versuchstemperatur abhängig ist. In dem von uns untersuchten Konzentrationsbereich wurde das Farbmaximum bei 19° nach 18—20 Minuten beobachtet. Bei den höchsten von uns verwendeten Glykosidkonzentrationen, bei denen die größte Farbtiefe relativ schnell erreicht wird und das Abblassen schneller als bei schwächeren Lösungen vor sich geht, hielt sich die Reaktion bis zu 28 Minuten auf konstanter Farbtiefe. Durch die einheitlich in allen Versuchen durchgeführte Kolorimetrierung 24 Minuten nach Ansetzen der Reaktion wurde in dem untersuchten Dosierungsbereich kein meßbarer Fehler aufgenommen. Um durch Adsorption und andere physikalisch-chemische Faktoren bedingte Versuchsfehler nach Möglichkeit zu eliminieren, haben wir eine Bestimmungsmethode ausgearbeitet, bei der die kolorimetrische Auswertung im Vergleichsverfahren erfolgt. Dazu haben wir uns, den Vorschriften der Herstellerfirma folgend, Suppositorien mit bekanntem Glykosidgehalt hergestellt und die Farbreaktion des Extraktes dieser Zäpfchen mit dem unseres Untersuchungsmaterials verglichen.

Zunächst wurde ein Verfahren ausgearbeitet, bei dem ohne Benutzung eines Kolorimeters eine grobe Gehaltsbestimmung möglich ist. Zu diesem Zweck wurde nach der oben beschriebenen Methode die Baljet-Reaktion mit dem alkoholischen Extrakt verschiedener selbsthergestellter Suppositorien mit bekanntem Gehalt an DG angestellt und in jedem Einzelversuch ein Farbstandard hergestellt (Kaliumdichromat), der der einzelnen kolorimetrischen Reaktion nach 24 Minuten bei einer Schichtdicke von 1,5 cm (Reagensglasdicke) möglichst genau entsprach. Auf diese Weise haben wir uns eine Reihe von Standardfarben hergestellt, die in festverschlossenen Reagensgläsern aufbewahrt wurden und mit denen der Glykosidgehalt des zu untersuchenden Materials durch groben Vergleich der Farbintensitäten im Reagensglas ermittelt wurde. Das Verfahren gibt naturgemäß nur relativ ungenaue und grobe Werte, es hat sich uns aber als „Schnellmethode" bewährt, da sie gestattet, eine ungefähre Gehaltsbestimmung in kürzester Zeit durchzuführen. Mit Hilfe dieser Methode konnten wir zunächst feststellen, daß die kolorimetrische Reaktion der beanstandeten Suppositorien einem Glykosidgehalt von 7—11,0 mg DG/S entsprach.

Für die genaue kolorimetrische Gehaltsbestimmung gingen wir folgendermaßen vor*: Es wurde die Baljet-Reaktion mit dem alkoholischen Extrakt selbsthergestellter Suppositorien mit bekanntem Glykosidgehalt angestellt und im Kolorimeter die Schichtdicke ermittelt, die gleiche Farbintensität wie ein Farbstandard (konstante Schichtdicke) gab. Die hierbei erhaltenen Werte wurden als Eichkurve graphisch dargestellt,

* Die Untersuchungen wurden mit einem Leitzschen Universalkolorimeter durchgeführt. Wir sprechen der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft unseren Dank für die Bereitstellung dieses Instrumentes aus.

indem die jeweils ermittelten Schichtdicken als Abszissenwerte, die zugehörigen Werte des Glykosidgehaltes als Ordinaten verwendet wurden. Der Kolorimeterwert der Farbreaktion des zu untersuchenden Materials läßt den gesuchten Glykosidgehalt aus der Eichkurve des zum Vergleich benutzten Farbstandards ohne weiteres ablesen.

Um die bei der Einwaage der Substanzen und bei der Herstellung der Masse unvermeidlichen Versuchsfehler nach Möglichkeit zu vermindern, wurden jeweils drei Ansätze für jede Gewichtsklasse hergestellt und einzeln ausgewertet.

Eine derartige für unsere Auswertung benutzte Eichkurve zeigt die Abb. 1. Als Farbstandard diente hierbei eine Kaliumdichromatlösung, die der kolorimetrischen Reaktion des alkoholischen Extraktes einer Suppositorienmasse mit einem Gehalt von 11,0 mg DG entsprach. Die Punkte der Eichkurve geben die Mittel der kolorimetrischen Auswertung von je drei Suppositorien mit einem Gehalt von 4,0, 6,0 usw. mg DG/S.

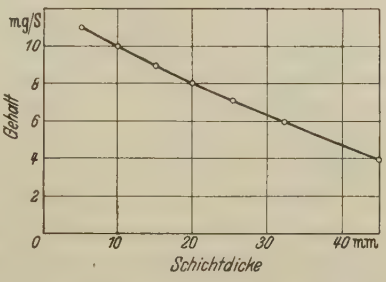


Abb. 1. Eichkurve für einen Meßbereich von 4,0 bis 11,0 mg DG/S. Farbstandard XI. Schichtdicke 8,0 mm. Abszissenachse: abgelesene Schichtdicke. Ordinatenachse: Gehalt an DG in mg/Suppositorium.

Die Auswertung der beanstandeten Suppositorien wurde im Vergleich mit insgesamt vier verschiedenen Standardfarben durchgeführt. Wir geben zunächst die Einzelwerte aus einer Versuchsreihe mit Standard XI (Schichtdicke 8,0 mm).

Es wurden sechs Einzelbestimmungen mit je 6 Ablesungen durchgeführt. Die Ergebnisse dieser Meßreihen sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. Kolorimetrische Auswertung. Farbstandard XI. Abgelesene Schichtdicke in mm.

Meßreihe	I	II	III	IV	V	VI
Schichtdicke	12,9	12,9	12,4	13,1	12,6	12,9
	12,9	12,8	12,1	13,2	12,9	12,8
	13,4	12,5	13,0	13,0	12,9	12,4
	14,0	13,8	12,8	12,8	13,6	13,2
	13,6	13,1	12,4	13,3	13,4	13,1
	13,6	12,6	12,9	13,8	13,8	12,7
Mittel:	13,4	12,8	12,6	13,2	13,4	12,8

$\Sigma_M = 78{,}0$. $\text{Mittel}_M = 13{,}0 \pm 0{,}13$.

Der im Mittel in 6 Meßreihen gefundenen Schichtdicke von 13,0 mm entspricht auf unserer Eichkurve ein Glykosidgehalt von 9,5 mg DG/S. Kontrollbestimmungen mit drei weiteren Standardfarben ergaben folgende Werte: 8,9, 9,2, 9,1, 9,5 mg; Mittel 9,18 mg $\pm$ 0,25.

Es war somit durch die kolorimetrische Bestimmung festgestellt worden, daß jedes der beanstandeten Suppositorien im Mittel 9,18 mg des für die Herstellung verwendeten Glykosidgemisches enthielt. Der Titer dieses DG betrug 106000 FD/g, er war der Herstellerfirma genau bekannt. Das vorliegende Material war mit 150 FD/S deklariert. Dieser Deklaration hätte ein Gehalt von 1,415 mg DG/S entsprochen. Im vorliegenden Falle waren 975 FD an Stelle der deklarierten 150 FD/S enthalten.

Es konnte festgestellt werden, daß bei der Herstellung der Suppositorien eine Verwechslung von Digitalissubstanzen mit stark unterschiedlichem Titer vorgekommen war. Das der Berechnung des Herstellungsansatzes zugrunde liegende Glykosidgemisch hatte einen Titer von 16000 FD/g. Diesem Wert hätte bei 150 FD/S ein Gehalt von 9,4 mg DG/S entsprochen. Durch eine verhängnisvolle Verwechslung wurde ein fast 7fach so starkes Glykosidgemisch verwendet, ohne dem erhöhten Gehalt an Digitaliswirkstoffen in der Berechnung des Ansatzes Rechnung zu tragen.

Mit dem uns zur Verfügung stehenden Material an DG haben wir weitere Untersuchungen durchgeführt, indem wir selbsthergestellte Suppositorien mit verschiedenem Glykosidgehalt in einem breiten Dosierungsbereich auswerteten. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2. Auswertung von Suppositorien mit verschiedenem Glykosidgehalt. Werte in mg DG/S.

Versuchsreihe	I	II	III	IV	V
Gefundener Gehalt	4,2	5,4	6,9	7,4	10,2
	4,1	4,3	7,4	7,5	10,6
	3,9	4,8	7,2	7,1	10,6
	4,4		7,1	7,8	10,6
	4,2			7,4	
	4,3			7,9	
Mittel:	**4,18**	**4,8**	**7,15**	**7,52**	**10,5**
Tatsächlicher Gehalt:	4,2	5,9	7,3	7,7	10,5

Die gefundenen Werte stehen in guter Übereinstimmung mit dem tatsächlichen Gehalt an DG. Die vorstehenden Versuche sind noch durch die Besonderheit ausgezeichnet, daß die Suppositorien in diesem Falle ohne Zusatz von Konservierungsmittel und Anästhetikum hergestellt wurden.

4.

Mit Hilfe der kolorimetrischen Auswertungsmethode haben wir weiterhin die Wertbestimmung von Suppositorien durchgeführt, die Digitalis in Form der Blätterdroge enthalten.

Es ist bekanntlich nicht möglich, die Baljet-Reaktion zur quantitativen Bestimmung des Wirkungswertes von Folia digitalis zu benutzen. Wasicky und Mitarbeiter[18, 19] konnten zeigen, daß die Reaktion auch

von einem Blättermaterial gegeben wird, das durch Zersetzung erheblich an Wirkungsstärke eingebüßt hat. Die weiter oben besprochene Unspezifität der Reaktion macht es weiterhin unmöglich, Digitalisglykoside quantitativ neben organischen Gewebsbestandteilen nachzuweisen. Ungünstige Erfahrungen, die de Lind van Wijngaarden[20] und Rowe[21] bei ihren Untersuchungen machten, führten bekanntlich dazu, daß die internationale Standardisierungskommision des Völkerbundes die Baljet-Reaktion für die Auswertung der Digitalisdroge ablehnte.

Die kolorimetrische Auswertung von Suppositorien, die Digitalis in Form der Blätterdroge enthalten, bleibt von nur begrenztem Wert, so lange nicht das zur Herstellung verwendete Material für die Untersuchung zur Verfügung steht. In diesem Falle treten aber bei Verwendung des Vergleichsverfahrens unspezifische Beeinflussungen der Farbreaktion in allen Versuchen gleichmäßig in Erscheinung und verändern das Endresultat nicht. Die kolorimetrische Wertbestimmung gibt dann gute Resultate.

Wir bringen in Tabelle 3 die Ergebnisse der Auswertung von Suppositorien, die wir unter Verwendung eines in unserem Institut ausgewerteten Blättermaterials herstellten. Der Gehalt wird hierbei in g Fol. dig./S angegeben.

Tabelle 3. Kolorimetrische Auswertung von Suppositorien, die Digitalis in Form der Blätterdroge enthalten.

Versuchsreihe	I	II	III	IV	V
Gefundener Gehalt	0,11	0,12	0,14	0,2	0,4
	0,09	0,12	0,15	0,18	0,4
	0,1	0,1		0,18	
	0,1	0,1			
Mittel:	**0,1**	**0,11**	**0,145**	**0,186**	**0,4**
Tatsächlicher Gehalt:	0,1	0,12	0,15	0,2	0,4

5.

Wir haben weiterhin mit dem kolorimetrischen Vergleichsverfahren einige handelsübliche Suppositorien untersucht, die Digitalis in Form der Blätterdroge enthalten und deren Einzelbestandteile uns nicht bekannt waren. Die für diese Bestimmung verwendeten Eichkurven wurden für ein Untersuchungsmaterial angelegt, das neben Kakaobutter und weißem Wachs nur Fol. dig. mit einem Titer von 1950 FD/S enthielt. Es wurde bei diesen Bestimmungen also stillschweigend vorausgesetzt, daß der „Leerwert" der zu untersuchenden Zäpfchen (organische Bestandteile usw.) der gleiche wie der unserer selbsthergestellten Suppositorien war. Tabelle 4 bringt die Ergebnisse dieser Auswertungen.

[18] Wasicky, R.: Biochem. Z. **113**, 1 (1921). — [19] Wasicky, R., F. Lasch u. K. Schonovski: Arch. Pharmaz. **264**, 92 (1926). — [20] de Lind v. Wijngaarden: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **112**, 252 (1926). — [21] Rowe, L.: J. amer. pharmac. Assoc. **16**, 510 (1927).

Tabelle 4. Wertbestimmung von handelsüblichen Digitalissuppositorien. Titer der zum Vergleich benutzten Fol. dig. 1950 FD/g.

Präparat	Deklaration		Gefundene Werte	
	g Fol. dig./S	FD/S	g Fol. dig./S	FD/S
Dig. Exclud Z.	0,1	**200**	0,085 ± 0,01	**166**
Digitalysat Z.	0,1	**150**	0,065 ± 0,02	**127**
Diginorm Z.	0,1	**150**	0,07 ± 0,01	**137**
Dig. Dispert Z.	0,2	**300**	0,15 ± 0,02	**292**

Die in diesen Versuchsreihen gefundenen Werte dürfen nicht als absolut sicher angesehen werden, da die Möglichkeit besteht, daß die Farbreaktion durch Substanzen beeinflußt wird, die in dem untersuchten Präparat enthalten sind, die aber keine Digitaliswirkung besitzen. Die ermittelten Abweichungen von der Deklaration der untersuchten Präparate liegen innerhalb der Streuungsbreite der Methode. Eine zu hohe Dosierung kann in allen Fällen mit Sicherheit verneint werden.

6. Besprechung der Ergebnisse.

Die Ergebnisse der Auswertung handelsüblicher Suppositorien im biologischen Versuch zeigte, daß Zusätze, die zum Zwecke der Anästhesierung bzw. Konservierung in derartigen Präparaten enthalten sind, eine Auswertung im biologischen Versuche am Grasfrosch unmöglich machen können. Wir haben hierbei noch hinzuzufügen, daß auch der Versuch der Auswertung an Kaninchen und Ratte, denen Suppositorienmasse peroral bzw. rektal zugeführt wurde, zu keinen verwertbaren Resultaten führte. Die unübersichtlichen Resorptionsverhältnisse am Nagetier (Lit. bei Straub[22], Lendle[23] und Weese[5]) ließen ein verwertbares Ergebnis derartiger Versuche von vornherein kaum erwarten.

Steht das für die Herstellung der Suppositorien verwendete Rohmaterial zur Verfügung, ist also die Wertbestimmung der verwendeten Digitalisglykoside im biologischen Versuch durchführbar, so kann die Bestimmung der in den Zäpfchen enthaltenen Digitaliswirkstoffe auf chemischem Wege mit Hilfe der Baljet-Reaktion durchgeführt werden. Bei der Verwendung des Vergleichsverfahrens für die kolorimetrische Bestimmung ist es unwesentlich, ob die Farbreaktion durch Substanzen ohne Digitaliswirkung beeinflußt wird. Die entstehenden Verschiebungen der kolorimetrischen Reaktion werden durch die vergleichende Auswertung eliminiert. Aus diesem Grunde konnte die Extraktion des Materials mit absolutem Alkohol durchgeführt werden. Wir beobachteten beim Arbeiten mit geringer prozentigen Alkoholen, daß die Lösungen nicht stabil blieben. Die von Biehler und Rist[24] beschriebene Verstärkung der Baljet-Reaktion

[22] Straub, W.: Heffter II/2, S. 1356. — [23] Lendle, L.: Heffter E I, S. 11. — [24] Biehler, W., u. O. Rist: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **102**, 139 (1924).

bei Verwendung höherer als 20%iger Alkoholkonzentrationen tritt bei Verwendung der Vergleichsmethode gleichmäßig in allen Versuchen in Erscheinung und verändert dadurch das Endresultat nicht. Dasselbe gilt für alle durch physikalisch-chemische Faktoren hervorgerufenen Veränderungen.

Unsere Versuche zeigten, daß die mit der kolorimetrischen Methode durchgeführten Wertbestimmungen in guter Übereinstimmung mit dem tatsächlichen Gehalt des untersuchten Materials stehen. Selbstverständlich wird die Wertbestimmung der verwendeten Digitalissubstanz im biologischen Versuch, die eine Gehaltsangabe in FD erlaubt, nicht umgangen.

Die Ergebnisse der Wertbestimmung handelsüblicher Suppositorien, deren Rohmaterial nicht für die Untersuchung zur Verfügung steht, sind wie bereits oben erwähnt, von nur begrenztem Wert. Es ist bei derartigen Untersuchungen stets daran zu denken, daß die Farbreaktion durch organische Gewebsbestandteile, Zuckerstoffe u. a. beeinflußt werden kann. In den von uns untersuchten Fällen kann auf Grund der Ergebnisse der Gehaltsbestimmung lediglich ausgesagt werden, daß der Wirkungswert der Suppositorien nicht über dem der Deklaration liegt.

Abschließend sei darauf verwiesen, daß die kolorimetrische Bestimmung von Digitalisglykosiden durch Verwendung eines Pulfrichschen Stufenphotometers wesentlich vereinfacht wird. Hauschild[12] zeigte, daß diese Meßmethodik außerordentlich genaue Resultate gibt. In neueren Arbeiten der Lendleschen Schule wurde diese Methode mit bestem Erfolg verwendet. Die Wertbestimmung von Digitalissuppositorien auf stufenphotometrischem Wege dürfte zu einer weiteren Vereinfachung und Verbesserung der vorstehend beschriebenen Methode führen.

Zusammenfassung.

Es wird über eine Methode berichtet, bei der die Bestimmung des Gehalts an Digitalissubstanz in Suppositorien auf kolorimetrischem Wege mit Hilfe der Baljetschen Farbreaktion erfolgt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Über Schutzwirkungen des A. T. 10 gegen Curarinvergiftung.

Von

Friedrich Wirth.

(Eingegangen am 4. Juli 1940.)

Nach den Untersuchungen von W. Kelbling ergaben Erhöhungen des Serumkalks durch Injektion von Calciumsalzen und durch Nebenschilddrüsenhormon eine gewisse Schutzwirkung gegen die sonst absolut tödliche Dosis von Curarin (0.65 mg/kg) bei Ratten. Es war naheliegend, die entsprechende Wirkung des Präparats A. T. 10 in analoger Versuchsanordnung zu untersuchen.

Bei diesem Präparat handelt es sich um den „Calcinosefaktor", ein von F. Holz in die Behandlung der Tetanie eingeführtes, durch Bestrahlung gewonnenes Derivat des Ergosterins, das antirachitisch unwirksam ist. Das Präparat (0,5 % ölige Lösung von Dihydrotachysterin) wurde uns von der Firma „Bayer" liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellt.

Die Zufuhr des Calcinosefaktors in ausreichenden Dosen führt bei allen Säugetieren zu einem Anstieg des anorganischen, ionisierten Kalkes im Blute. Während nach Nebenschilddrüsenhormongaben der Anstieg sofort erfolgt und steiler verläuft, besteht nach A. T. 10 eine durchschnittliche Latenzzeit von 24—60 Stunden und dann ein allmählicher, aber auch länger anhaltender Anstieg des Serumkalkspiegels. Meist wirkt die perorale Zufuhr besser als die subkutane, wahrscheinlich, weil die ölige Lösung aus dem subkutanen Depot langsamer resorbiert wird. Allgemein findet sich nach Holtz und Schreiber bei Hunden und Ratten neben Verkalkungen an Gefäßen und parenchymatösen Organen Hyperphosphatämie und Hyperkalzämie. Der Wirkungsmechanismus besteht in einer Demineralisation der Kalkdepots. Die damit verbundene Änderung der Stoffwechsellage erklärt die Abmagerungserscheinungen.

Methodik.

Wir arbeiteten in unseren Versuchen mit weißen Ratten beiderlei Geschlechts (durchschnittlich 100—180 g). Zur Messung der Serumkalkwerte verwendeten wir die Methode nach de Waard, da die etwas genauere,

klinisch meist angewandte Methode nach Kramer-Tisdal bei den geringen Blutmengen nicht durchführbar war. Die Blutgewinnung erfolgte durch Eröffnung der beiden Carotiden nach Betäubung durch Schlag. Vom A. T. 10 wurde eine 10 %ige Emulsion mit Wasser und Gummi arabicum hergestellt, so daß 1 ccm 3 Tropfen des Präparates entsprachen (klinisch-therapeutisch liegen die Gaben beim Menschen bei 3—6 Tropfen am Tage). Diese wurde mittels Magenschlauch (kleiner Katheter) täglich zwischen 9 und 12 Uhr gegeben. Die Blutuntersuchung oder Prüfung der Schutzwirkung fand 24 Stunden nach der letzten A. T. 10-Gabe statt.

Versuche.

In Vorversuchen wurde die Dosis A. T. 10 festgestellt, die eine deutliche Ca-Spiegelerhöhung hervorruft. Diese wurde mit 3—6 Tropfen (6 Tage lang) gefunden. Während bei normalen weißen Ratten der Serumkalkspiegel 11,5 ± 0,6 mg% (Mittel aus 10 Tieren) beträgt, finden wir nach 24 und 40 Stunden noch keine deutliche Erhöhung, nach 96 Stunden beginnt ein deutlicher Anstieg des Serumkalziums. Nach 5–7 Tagen konnten wir an vielen Messungen und an der Schutzwirkung die deutliche Erhöhung nachweisen: bei 25 Tieren durchschnittlich 16,9 ± 0,75 mg% (Einzelwerte s. Tabelle 1).

Tabelle 1. A. T. 10 und Serumkalk.

Anzahl der Tiere	A. T. 10 und Tage	Serumkalk
10	0	11,5 ± 0,6
5	3 gtt 1 Tag	11,6 ± 0,2
5	3 „ 2 Tage	12,5 ± 0,7
5	3 „ 4 Tage	12,4 ± 0,2
9	2—5 gtt 5—6 Tage	17,7 ± 0,7
8	2—4 „ 6—7 „	16,3 ± 0,3
8	3 „ 6 „	16,8
Zus. 25	entsprechend	16,9 ± 0,75

Zur Untersuchung der Schutzwirkung gegen Vergiftung verwandten wir eine Curarinlösung 1 : 5000 in der Dosierung von 0,65 mg/kg. Nach diesen Gaben überlebten von den 25 mit A. T. 10 vorbehandelten Ratten 13 Tiere, während bei den unbehandelten Kontrollen alle starben. Auch im Verlauf der Vergiftung zeigten sich Unterschiede: die Kontrolltiere starben in gelähmtem Zustande nach 10—30 Minuten, die mit A. T. 10 behandelten Ratten kamen in ein Stadium der Übererregbarkeit, bekamen Krämpfe. Der Tod trat bei diesen Tieren erst nach 20—60 Minuten ein. (Einzelwerte s. Tabelle 2).

Wir fanden also bei 25 Ratten, bei denen das Serumcalcium durch Vorbehandlung mit A. T. 10 erhöht war, eine deutliche Herabsetzung der Mortalität nach der sonst absolut tödlichen Curaringabe von 0,65 mg/kg.

Tabelle 2. Serumkalk und Curarinvergiftung (0,65 mg/kg Curarin).

Anzahl der Tiere	Serumkalk	Gestorben
20	$11{,}5 \pm 0{,}6$	20
5	$12{,}4 \pm 0{,}2$	5
9	$17{,}7 \pm 0{,}7$	4
8	$16{,}3 \pm 0{,}3$	5
8	$16{,}8 \pm$!	4
Zus. 25	entsprechend	13

Die Steigerung des Calciumspiegels im Blute durch A. T. 10 wirkt sich also in der Schutzwirkung gegenüber der Curarinvergiftung in gleicher Weise aus, wie die Erhöhung des Calciumspiegels durch Injektion von Kalksalzen oder von Nebenschilddrüsenhormon.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: O. Gros.)

Schutzwirkung des Nebenschilddrüsenhormons gegen Vergiftung mit Curarin.

Von

Wolfgang Kelbling.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. Juli 1940.)

Schon seit langem ist die blutkalkerhöhende Wirkung des Nebenschilddrüsenhormons bekannt. Die vorliegende Untersuchung sollte prüfen, ob die durch dieses Hormon hervorgerufene Erhöhung des Serumcalciums einen ebensolchen Schutz gegen die Curarinvergiftung bewirkt, wie er nach Injektion von Kalksalzen zu beobachten ist.

Über die Aufhebung von Giftwirkungen auf der Grundlage der Permeabilitätsverminderung durch das Calcium, auf die wir das Zustandekommen unserer Ergebnisse zurückführen zu können glauben, liegen in der Literatur bisher nur wenig Resultate vor. Führer[1] glaubte, daß die durch Zusatz von kleinen Calciummengen zu einer Guanidinlösung verzögerte Giftwirkung auf einer durch das Ca hervorgerufenen Verlangsamung des Vordringens zur Nervenendigung beruhe. Ebenso beobachtete G. Boehm[2] eine Abschwächung der Perchloratwirkung infolge einer Oberflächendichtung durch Ca. Ferner sahen O. Gros und Steiner 1914 im hiesigen Institut in nicht veröffentlichten Versuchen, daß die Curarin- und Strychninwirkung bei Fröschen nach vorheriger Calciumbehandlung verspätet oder stark abgeschwächt eintritt. An ihre Versuchsergebnisse anknüpfend führten wir unsere Versuche an weißen Ratten durch. Das Curarin schien uns zu unseren Versuchszwecken geeignet, weil sein Angriffspunkt an den motorischen Nervenendorganen hinreichend bekannt ist[3] und es bei nicht intravenöser Injektion nur durch Resorption in die Blutbahn und folgender Abgabe aus derselben peripher wirksam werden kann. Es erwies sich auch insofern als brauchbar, als es eine große Konstanz der Wirkung zeigt, und diese innerhalb eines weiten Bereiches von der Konzentration im Blute abhängt. Schließlich erfolgt die Ausscheidung sehr schnell, so daß ein Tier, das nach etwa einer Stunde nicht gestorben war, mit Bestimmtheit überlebte und somit immer eine eindeutige Entscheidung über den Versuchsgang getroffen werden konnte.

---

[1] Führer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **58**, 19 (1908). — [2] Boehm, G.: Ebenda **146**, 337 (1929). — [3] Boehm, R.: Ebenda **35**, 16 (1895).

Methodik.

Die Versuche wurden an weißen Ratten durchgeführt. Zunächst untersuchten wir die Erhöhung des Serumcalciums nach Injektion von Calciumsalz und von Epithelkörperchenhormon. Wir verwendeten dabei Calciumgluconat-lactobionat („Calcium Sandoz") und Extr. parathyreoideae „Henning"*. Die Calciumbestimmungen im Serum wurden nach de Waard[4] vorgenommen. Diese Methode erwies sich bei der Nachprüfung an Lösungen mit bekanntem Ca-Gehalt und in Doppelbestimmungen als brauchbar. Sodann wurde die Curarindosis bestimmt, bei der über zwei Drittel der Tiere starben. In weiteren Versuchen wurde diese Dosis bis zur absolut tödlichen Dosis erhöht. Das von uns verwendete Curarin war von R. Boehm im hiesigen Institut dargestellt. Schließlich wurde die Schutzwirkung untersucht, die das vorher injizierte Calcium bzw. Nebenschilddrüsenhormon gegen die Vergiftung mit Curarin ausübt. Injiziert wurde immer subcutan, dabei das Calcium in der Weise, daß wir die zur Zufuhr von 100 mg/kg erforderliche Menge Calcium Sandoz in zwei Gaben von je 50 mg kg im Abstand von 3 Stunden verabfolgten und 6 bzw. 24 oder 48 Stunden nach der ersten Injektion das Curarin spritzten. Die Zeitangaben sind im folgenden also bei dem Ca von der ersten, bei dem Hormon von der einmaligen Injektion an in Stunden angegeben. Eine Versuchsreihe umfaßt jeweils 15 Tiere. Die Serumcalciumwerte sind Mittelwerte aus je acht Bestimmungen. Es zeigte sich, daß die einzelnen Werte nur wenig streuten, so daß die Anzahl der Bestimmungen ausreichend erschien.

Versuche.

Aus Abb. 1 und Tabellen 1 und 2 ist zu ersehen, daß nach 0,45 mg/kg Curarin unbehandelt von 15 Tieren 11 starben, dagegen nach vorheriger Injektion von 100 mg/kg Ca nach 6, 24 und 48 Stunden keins bzw. 2. Erwartungsgemäß ist das Serumcalcium auch 6 Stunden nach der Ca-Injektion noch erhöht, nach 24 und 48 Stunden dagegen zur Norm zurückgekehrt bzw. etwas abgesunken, was wohl als Überkompensation aufzufassen ist.

Tabelle 1. Curarinversuche.

Nr.	t	n	z	%	Δ
1	—	15	11	73,3	
2	6	15	0	0	73,3 ± 11,4
3	24	15	0	0	73,3 ± 11,4
4	48	15	2	13,3	60,0 ± 18,1

[4] de Waard, D. J.: Biochem. Z. **97**, 186 (1919).

* Das Hormon wurde uns von der Chem. u. Pharm. Fabrik Dr. Henning freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

In der Tabelle ist unter 1 der Versuch berichtet, bei dem die Tiere nur Curarin, unter 2, 3, 4 die Versuche, bei welchen die Tiere erst Calcium und dann nach 6 bzw. 24 oder 48 Stunden Curarin erhielten.

Es bedeutet: n = Anzahl der Tiere einer Versuchsreihe, z = Zahl der gestorbenen Tiere, Δ = Differenz und deren mittlerer Fehler zwischen den Prozentzahlen der mit Ca vorbehandelten bzw. nicht vorbehandelten gestorbenen Tiere. t = Zeit in Stunden.

Aus den Werten von Δ ist zu entnehmen, daß die Ergebnisse an mit Ca vorbehandelten Tieren mit Sicherheit als reell anzusehen sind, da die

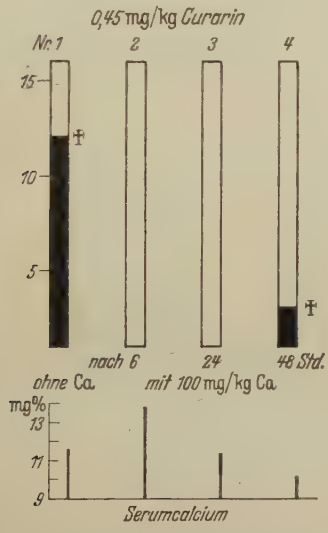


Abb. 1.

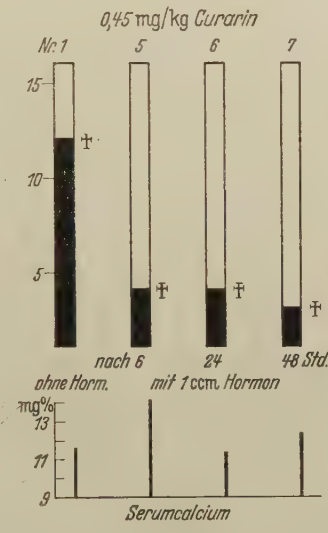


Abb. 2.

Differenzen der Prozentzahlen in allen Fällen größer als die dreifachen mittleren Fehler derselben sind.

Tabelle 2. Ca-Serumwerte.

Nr.	t	n	M	Δ
1	—	8	11,48	
2	6	8	13,73	$+ 2{,}25 \pm 0{,}4$ (2—1)
3	24	8	11,28	$- 0{,}2 \pm 0{,}35$ (3—1)
4	48	8	10,07	$- 1{,}41 \pm 0{,}33$ (4—1)

Unter 1 ist der Mittelwert des Serumcalciums von 8 unbehandelten Tieren gegeben, unter 2, 3, 4 die Mittelwerte nach Calciumzufuhr. Es bedeutet: n = Zahl der Bestimmungen, t = Zeit in Stunden zwischen Injektion der Ca-Lösung und der Blutentnahme zur Ca-Bestimmung, M = Mittelwert, Δ = die Differenz zwischen den Normalwerten und den nach Injektion von Calcium erhaltenen.

Es ergibt sich, daß 6 Stunden nach der Ca-Injektion eine reelle Erhöhung des Calciumspiegels im Blut vorhanden ist. Nach 24 Stunden ist der Normalwert etwa wieder erreicht; nach 48 Stunden ist der Ca-Spiegel unter die Norm gesunken.

In Erweiterung des Versuches spritzten wir 10 Tieren die halbe Dosis, also 50 mg/kg Calcium intraperitoneal. Die kurz darauf angeschlossene subcutane Injektion von 0,45 mg/kg Curarin überlebten alle Tiere.

Wir legten uns nun die Frage vor, ob auch die durch Nebenschilddrüsenhormon im Serum zu erreichende Ca-Erhöhung dieselbe Schutzwirkung zu entfalten imstande war. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie in den ersten Versuchsreihen, nur wurde statt des Calciums jetzt je 1 ccm Nebenschilddrüsenhormon* pro Tier subcutan injiziert. Ergebnisse Abb. 2 und Tabellen 3 und 4.

Tabelle 3. Curarinversuche.

Nr.	t	n	z	%	Δ
1	—	15	11	73,3	
5	6	15	3	20,0	$53{,}3 \pm 17{,}8$
6	24	15	3	20,0	$53{,}3 \pm 17{,}8$
7	48	15	2	13,3	$60{,}0 \pm 18{,}1$

Es zeigt sich beim Vergleich, daß auch hier die Schutzwirkung nach 6, 24 und 48 Stunden als sicher bestehend gelten kann. (Der Einfachheit halber wurde der Kontrollversuch mit unvorbehandelten Tieren, der dasselbe Ergebnis hatte wie in der ersten Versuchsreihe, auch wieder mit Nr. 1 bezeichnet.)

Tabelle 4. Ca-Serumwerte.

Nr.	t	n	M	Δ
1	—	8	11,48	
5	6	8	14,18	$+2{,}7 \pm 0{,}43$ (5—1)
6	24	8	11,57	$+0{,}09 \pm 0{,}38$ (6—1)
7	48	8	12,26	$+0{,}78 \pm 0{,}4$ (7—1)

Nach 6 Stunden ist eine Erhöhung des Ca-Spiegels im Serum sicher vorhanden. Nach 24 Stunden ist der Normalwert wieder erreicht. Nach 48 Stunden scheint wieder ein Anstieg des Calciumspiegels zu erfolgen, jedoch ist die gegen die Norm beobachtete Differenz von 0,78 nur etwa doppelt so groß wie der mittlere Fehler, so daß sich der Wiederanstieg des Ca im Serum nicht mit Sicherheit aus diesen Versuchen feststellen läßt.

Hatten wir bisher die Curarindosis mit 0,45 mg/kg gewählt, so erhöhten wir diese jetzt um 20% auf 0,54 mg/kg, um etwas über die Breite der

* 1 ccm Extr. parathyreoideae entspricht nach den Angaben der Hersteller 1 g frischer Drüse.

festgestellten Schutzwirkung von 1 ccm Hormon zu erfahren. Siehe Abb. 3 und Tabelle 5.

Tabelle 5. Curarinversuche.

Nr.	n	z	%	Δ
8	15	12	80,0	
9	15	6	40,0	$40{,}0 \pm 17{,}9$

Aus Tabelle 5 ergibt sich, daß die Differenz $p_8 - p_9$ größer als ihr zweifacher mittlerer Fehler und damit wahrscheinlich — aber nicht absolut

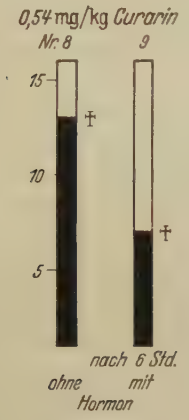


Abb. 3.

Abb. 4.

sicher — als reell anzusehen ist. Die dazugehörigen Serumwerte siehe Tabelle 4. Auch bei Erhöhung der Curarindosis ist also die Schutzwirkung das Nebenschilddrüsenhormons noch deutlich merkbar.

Schließlich erhöhten wir die Curarindosis um 44 % der anfänglichen auf 0,65 mg/kg und erreichten damit die absolut tödliche Dosis (Versuch Nr. 10). Auch bei dieser hohen Gabe des Curarins ist die Schutzwirkung sowohl des Calciums als auch des Nebenschilddrüsenhormons noch vorhanden. Während von 15 nicht vorbehandelten Tieren bei dieser Curargabe alle starben, gingen nach der Vorbehandlung mit 100 mg Ca/kg von 15 Tieren nur 4 ein. (Versuch Nr. 11), nach Vorbehandlung mit Nebenschilddrüsenhormon nur 7 (Versuch Nr. 12).

Tabelle 6. Curarinversuche.

Nr.	n	z	%	Δ
10	15	15	100,0	
11	15	4	26,6	$73{,}4 \pm 17{,}6$
12	15	7	46,6	$53{,}4 \pm 16{,}2$
13	15	11	73,3	$26{,}7 \pm 12{,}4$

In einem weiteren Versuch (Nr. 13) erhielten 15 Tiere wieder 100 mg Ca/kg, 6 Stunden danach 0,65 mg/kg Curarin und 20 Minuten vor der Curarininjektion $^1/_2$ ccm Nebenschilddrüsenhormon. Von diesen Tieren starben 11. Der Mittelwert des Serumcalciums aus 8 Bestimmungen lag 20 Minuten nach der Hormoninjektion ungefähr auf der Höhe der Norm. Diese Versuche sind in der Abb. 4 und der Tabelle 6 zusammengestellt.

Die Tabelle zeigt, daß — während bei den Versuchen mit Ca allein oder Nebenschilddrüsenhormon allein die Differenz gegen die unvorbehandelten Tiere den mittleren Fehler um mehr als das Dreifache übertrifft — in dem dritten Versuch, wo nach dem Ca das Nebenschilddrüsenhormon vor der Curarininjektion gegeben worden war, die Differenz nur wenig über dem doppelten mittleren Fehler liegt. Es läßt sich also hier nicht mehr sicher eine Schutzwirkung nachweisen. Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit den Versuchen von Bomskov[5] an Kaninchen, bei denen kleine Mengen von Nebenschilddrüsenhormon den durch vorherige Ca-Gabe erhöhten Serum-Calciumspiegel im Sinne einer Senkung zu normalen oder unternormalen Werten beeinflußt.

Zusammenfassung.

Bei dieser Untersuchung gingen wir von der bekannten Annahme aus, daß Kalksalze die Permeabilität der Gewebe ändern. Es sollte zunächst geprüft werden, ob die Erhöhung des Ca-Spiegels im Blute nach Injektion von Nebenschilddrüsenhormon die gleiche Schutzwirkung gegen Curarin zur Folge hat, wie die Vorbehandlung mit Ca-Salzen. Dies hat sich bestätigt: sowohl die Vorbehandlung mit Ca-Salzen als auch die mit Nebenschilddrüsenhormon gibt einen weitgehenden Schutz gegen die Vergiftung mit Curarin. Unsere Versuche zeigen aber weiterhin, daß es sich hier um eine sekundäre Wirkung der Ca-Salze handelt. Durch diese werden Veränderungen im Gewebe hervorgerufen, die die Erhöhung des Ca-Spiegels im Blute überdauern. Über die Natur dieser Veränderungen läßt sich zunächst nicht viel sagen. Der Versuch, bei welchem durch die der Calciumdarreichung folgende Nebenschilddrüsenhormon-Injektion die Schutzwirkung stark vermindert wurde, gleichzeitig mit der Senkung des Ca-Spiegels, läßt vielleicht schließen, daß die Bildung dieses sekundären Produktes eine gewisse Zeit und einen gewissen Überschuß von Ca gegen die Norm erfordert. Die Beobachtung, daß die Schutzwirkung den Anstieg des Ca-Spiegels im Blute lange Zeit überdauert, gestattet andererseits den Schluß, daß das sekundäre Produkt relativ beständig ist und erst langsam wieder verschwindet.

[5] Bomskov, Chr.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **157**, 224 (1930).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. S. Janssen.)

Über die Gehaltsbestimmung und den Gehalt von Vitamin D in handelsüblichen Lebertranen*.

Von

Oswald Feuchtinger.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 23. Juni 1940.)

Für die Auswertung von Lebertranen auf Vitamin D stehen uns eine große Zahl verschiedener Methoden zur Verfügung. Bei der Auswahl der geeigneten Methode sind also zunächst einmal alle vorhandenen Auswertungsverfahren nach Vor- und Nachteilen gegeneinander abzuwägen, um das Verfahren herauszufinden, welches bei geringem Zeitaufwand eine möglichst einfache Arbeitsweise mit hinreichender Genauigkeit verbindet.

Wie bei allen Vitaminwertbestimmungen unterscheidet man prophylaktische und kurative Methoden. Alle diese Bestimmungen werden an Ratten durchgeführt. Wertbestimmungen an größeren Tieren, wie Kaninchen, Hund und Ziege, die auf der Stoffwechselwirkung des Vitamins D beruhen, haben sich nicht durchsetzen können. Auch Versuche am Hühnchen[1], welche sich auf die Erzeugung der sogenannten legweakness gründen, sind unspezifisch und deshalb zu Auswertungen auf Vitamin D nicht geeignet.

Das Wesen der prophylaktischen Wertbestimmungen besteht darin, daß Gruppen von meist 10 jungen Ratten etwa 14 Tage lang rachitiserzeugendes Futter und gleichzeitig verschieden hohe Dosen der auszuwertenden Substanz bzw. bekannte Mengen eines Standardpräparates verabreicht werden. Als Maßstab für die Beurteilung der Wirkung dient entweder die Bestimmung des Mineralgehaltes der Knochen (Knochenasche-[2] bzw. Knochenkalktest[3]) oder die Messung des Metaphysenspaltes der Tibia im Röntgenbild (prophylaktischer Röntgentest[4]). Die mit der unbekannten Substanz erhaltenen Veränderungen werden, wie vom Accessory Commitee ausdrücklich empfohlen wird, mit denen

* Die Untersuchungen wurden im Auftrage und mit Mitteln des Reichsgesundheitsamtes durchgeführt. — [1] Massengale-Bills: J. Nutrit. **12**, 429 (1936); Grab: Hoppe-Seylers Z. **243**, 63 (1936). — [2] Hume-Pickersgill-Gaffikin: Biochem. J. **26**, 488 (1932). — [3] Sherman-Stiebeling: J. biol. Chem. (Am.) **83**, 497 (1929); **88**, 687 (1930). — [4] Bourdillon-Bruce: Biochem. J. **26**, 506 (1932); Scheunert-Schieblich: Biochem. Z. **209**, 290 (1929); Holtz-Laquer-Kreitmair-Moll: Ebenda **237**, 247 (1931).

eines bekannten Standardpräparates verglichen. Versuche, bei denen kein Standardpräparat zum Vergleich herangezogen wird, sondern einfach bestimmte Stadien der prophylaktischen Wirkung als „eigene Einheit" bezeichnet werden, sind also von vornherein abzulehnen. Denn unter diesen Versuchsbedingungen können jahreszeitliche und individuelle Schwankungen in der Resistenz der Tiere sowie Unterschiede in der verwandten Kostform nicht berücksichtigt werden.

Von den meisten Untersuchern[5] wurde immer nur ein einziges Stadium der prophylaktischen Wirkung, meist das Stadium des vollkommenen Schutzes vor Rachitis zum Vergleich benutzt. Alle Zwischenstadien, die durch kleinere Dosen erzeugt werden, bezeichnen diese Autoren als fraglich, sie fallen damit für die Wertbestimmung aus. Nach dem Vorgehen von Dyer stellte Bourdillon für den prophylaktischen Röntgentest eine Stadieneinteilung der Rachitis nach Behandlung der Tiere mit verschiedenen Dosen eines bekannten Standardpräparates auf. Acht verschiedene Stadien der prophylaktischen Wirkung stellte er zu einer Standardskala zusammen. Die Werte der Standardmengen, die zur Erzeugung der verschiedenen prophylaktischen Wirkungen notwendig waren, werden in internationalen Einheiten auf der Abszisse, die Skalenwerte auf der Ordinate eingetragen. Die Verbindung der verschiedenen Schnittpunkte ergibt eine Standard-Eichkurve. Die nach der Verfütterung der unbekannten Substanz erhaltenen Röntgenbilder werden mit der Standardskala verglichen, der Grad der prophylaktischen Wirkung festgestellt und auf Grund der Eichkurve die gesuchte Zahl von internationalen Einheiten bestimmt.

Die Standardskalen bzw. Eichkurven sind insofern von großem Vorteil, als sie für eine bestimmte Zucht nur zweimal im Jahre, und zwar im Sommer und Winter aufgestellt werden müssen. Zwischendurch kann die Prüfung eines Standardpräparates entbehrt werden. Die Berücksichtigung sämtlicher Zwischenstadien spart Zeit und Tiermaterial und erleichtert die Auswertung durch die Einfachheit der Ablesung.

Alle prophylaktischen Methoden besitzen den Vorteil einer kurzen Dauer der eigentlichen Versuchszeit. Aus diesem Grunde stellten sie bis vor kurzem wohl die am häufigsten zur Wertbestimmung von Vitamin D benutzten Verfahren dar. Dem Vorteil einer scheinbaren Zeitersparnis stehen aber zahlreiche Nachteile gegenüber.

Zuerst wäre die hohe Resistenz von Tieren aus einer normalen Zucht gegen das Entstehen einer Rachitis zu nennen. Nach unseren eigenen Erfahrungen an 200 Tieren kann bei einer Zucht, die bis zum Beginn der eigentlichen Versuchsperiode reichlich fettlösliche Vitamine erhalten hat, kaum eine prophylaktische Wertbestimmung durchgeführt werden. Bei

[5] Scheunert-Schieblich: l. c. [4]; Holtz-Laquer-Kreitmair-Moll: l. c. [4].

unbehandelten, d. h. nur mit Olivenöl und rachitogener Kost gefütterten Kontrolltieren läßt sich innerhalb von 14 Tagen nur eine mäßige Rachitis erzeugen. Die Mengen an Vitamin D, die täglich gegeben werden müssen, um die Entstehung der Rachitis zu verhindern, sind also sehr gering. So lag der antirachitische Grenzwert bei einzelnen unserer Versuchsgruppen unter 0,005 γ. Dieser Nachteil macht sich am meisten beim prophylaktischen Röntgentest bemerkbar. Denn die Beurteilung der Röntgenbilder, insbesondere der Zwischenstadien, wird hier nahezu unmöglich. Infolge der großen Resistenz der Tiere ist es also notwendig, zur Entziehung der Vitamin D-Reserven die Ratten, welche für den prophylaktischen Test Verwendung finden sollen, schon längere Zeit vor Versuchsbeginn mit einer besonderen Vorkost zu füttern[6]. Wir haben selbst zeitweise eine derartige Zuchtdiät verabreicht. Ein Nachteil ist dabei, daß schon bei dieser Kost weniger resistente Würfe eine sogenannte Stallrachitis bekommen und damit für den prophylaktischen Versuch ausfallen. Andere Untersucher halten sogar die Muttertiere im Dunkeln und geben diesen eine besondere Kost. Die Anforderungen an Zeit und Arbeitsaufwand wachsen damit natürlich erheblich.

Einen weiteren Nachteil bildet die Notwendigkeit der Einteilung in Würfe. Bei allen prophylaktischen Verfahren ist die Zusammenstellung der Gruppen aus gleichen Würfen unerläßlich. Denn bei diesen Methoden läßt sich die Resistenz, d. h. die Rachitisbereitschaft des einzelnen Tieres im Voraus nicht bestimmen, und man ist somit gezwungen, von einem einigermaßen gleichmäßigen Tiermaterial auszugehen. Die Auswertung der unbekannten Substanz wird durch Vergleich mit Standardbefunden vorgenommen, die aus der Behandlung von Tieren desselben Resistenzgrades resultieren. Nun reagieren aber die einzelnen Würfe — zufolge ihrer verschiedenen Resistenz untereinander — verschieden auf die Zufuhr gleicher Mengen von Vitamin D. Dieser verschiedenen Resistenz der einzelnen Würfe = Gruppen untereinander hat man insofern Rechnung getragen, als auch drei verschiedene Standardkurven für leicht, mittel und stark resistente Würfe aufgestellt werden sollen[7]. Der Resistenzgrad der Gruppe wird nach dem rachitischen Zustand des unbehandelten Kontrolltieres beurteilt. Hiergegen ist einzuwenden, daß auch aus der Schwere der Rachitis des einen Kontrolltieres kein absolut sicherer Schluß auf den rachitischen Zustand aller Tiere desselben Wurfes gezogen werden kann. Denn selbst die einzelnen Tiere des gleichen Wurfes können sich wiederum untereinander in ihrer Reaktionsweise unterscheiden. Abgesehen davon, daß die Einteilung in Würfe und die Aufstellung von drei verschiedenen

[6] Steenbock: Science **58**, 449 (1923); Sherman: J. biol. Chem. (Am.) **60**, 5 (1924); Steenbock-Black: Ebenda **61**, 405 (1924); Schultz: Z. Kinderhk. **47**, 472 (1929); Schultz: Erg. Path. **28**, 393 (1934); Dyer: Quart. J. Pharmacy a. Pharmacol. **4**, 503 (1931); Sherman-Stiebeling: l. c. [3]; Bourdillon-Bruce: l. c. [4]. — [7] Bourdillon-Bruce: l. c. [4].

Eichkurven den Arbeitsaufwand erhöhen und die Auswertung im einzelnen erschweren, können die prophylaktischen Methoden also auch hinsichtlich der Genauigkeit der Versuchsergebnisse — infolge des Fehlers der Auswahl — nicht restlos befriedigen.

Die kurativen Methoden gründen sich auf die Beobachtung, daß Ratten, die etwa drei Wochen lang mit einer rachitiserzeugenden Kost gefüttert wurden, nach Abschluß dieser Vorperiode eine mittelschwere Rachitis zeigen. Werden die Tiere anschließend mit einer Vitamin D-haltigen unbekannten Substanz bzw. mit bestimmten Mengen eines bekannten Standardpräparates gefüttert, so weisen sie je nach dem Gehalt der verabreichten Präparate an Vitamin D verschiedene Heilungsgrade auf. Wie beim prophylaktischen Test vergleicht man Veränderungen, die durch bestimmte Mengen der unbekannten Substanz hervorgerufen wurden, mit solchen, die bekannte Mengen des Standardpräparates erzeugten. Als Maßstab für die Beurteilung der Wirkung dient der Befund an der Tibiametaphyse (Linetest[8], kurativer Röntgentest[9]), das Wachstum der Tiere (kurativer Wachstumstest[10]) oder der p_H der Faeces[11]. Wie für den prophylaktischen Röntgentest wurde von Bourdillon[12] auch für die entsprechende kurative Methode eine Standardskala aus den verschiedenen Heilungsgraden rachitischer Ratten zusammengestellt, damit alle Zwischenstadien zur Auswertung herangezogen werden können.

Die kurativen Verfahren besitzen folgende Vorteile:

Erstens zeigt sich nach Abschluß der Versuchszeit bei den unbehandelten Kontrolltieren eine schwere Rachitis. Infolgedessen sind auch alle Zwischenstadien nach Verabreichung verschiedener Dosen Vitamin D-haltiger Präparate deutlich zu erkennen und voneinander zu unterscheiden. Die heilende Dosis liegt bedeutend höher als der sogenannte antirachitische Grenzwert bei den prophylaktischen Methoden. Die Verfütterung einer Vorkost ist nicht notwendig.

Sodann kann mit Ausnahme des Linetestes auf eine Einteilung in Würfe verzichtet werden. Die Resistenz, d. h. die Rachitisbereitschaft jedes einzelnen Tieres ist nach Abschluß der Vorperiode am Ausmaß der entstandenen Rachitis zu erkennen. Die einzelnen Gruppen werden ohne Berücksichtigung der Zugehörigkeit zu einem bestimmten Wurf einfach

---

[8] Mc Collum u. Mitarbeiter: J. biol. Chem. (Am.) **47**, 507 (1921); Bills u. Mitarbeiter: Ebenda **90**, 620 (1931); Coward: Quart. J. Pharmacol. **1**, 27 (1928); Coward: Ebenda **2**, 44 (1929); Coward: Biochem. J. **22**, 1221 (1928); ebenda **26**, 1585 (1932); Key-Morgan: Ebenda **26**, 196 (1932); Heubner-Frerichs: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **165**, 561 (1932); Morgan: Biochem. J. **26**, 1144 (1932); Dyer: l. c. [6]. — [9] Bourdillon-Bruce-Webster: London His Maj. State Off. 1931: „The quantitative Estimation of Vitamin D by Radiography"; Bourdillon u. Mitarbeiter: Biochem. J. **26**, 506 (1932); Van Everse u. Mitarbeiter: Neederl. Tijdskr. Geneesk. **75**, 1101 (1931); Poulsson-Lövenskjold: Biochem. J. **22**, 134 (1928); Schultz: l. c. [6]. — [10] Coward: l. c. [8]. — [11] Jephcott-Bacharach: Biochem. J. **20**, 1351 (1926). — [12] Bourdillon u. Mitarbeiter: l. c. [9].

nach dem Grad der entstandenen Rachitis so zusammengestellt, daß alle Tiere einer Gruppe dieselbe Ausgangsrachitis zeigen. Tiere, welche infolge zu hoher Resistenz oder mangelnder Gewichtszunahme keine Rachitis bekommen haben, oder die umgekehrt infolge zu geringer Resistenz oder zu starker Gewichtszunahme eine über den Durchschnitt hinausgehende Rachitis zeigen, werden ausgeschieden.

Drittens erfolgt die Auswertung nicht nach verschiedenen Resistenzgraden durch Aufstellung mehrerer Standardkurven, sondern man benötigt nur eine einzige solche Eichkurve. Dadurch wird das Verfahren nicht nur einfacher, sondern auch genauer. Diesen Vorteilen steht nur ein Nachteil gegenüber: die Länge der Versuchszeit.

Vergleichen wir die prophylaktischen und kurativen Methoden nunmehr miteinander, so ergibt sich folgendes: Zunächst sind bei beiden Auswertungsverfahren diejenigen Wertbestimmungen auszuscheiden, welche in der Ausführung besonders umständlich sind oder keine hinreichende Genauigkeit verbürgen. Hierher gehört von den prophylaktischen Methoden der Knochenasche- bzw. Knochenkalktest, welcher zwar sehr genaue Werte liefert, für Massenauswertungen aber nicht geeignet ist, von den kurativen Verfahren der Linetest, der Wachstumstest und der Faeces p_H-Test. Der Linetest besitzt dieselben Nachteile wie die prophylaktischen Verfahren hinsichtlich der Erkennung der Rachitisbereitschaft des einzelnen Tieres. Da die Tiere nämlich bei diesem Test getötet werden müssen, ist eine Auswahl nach Rachitisgraden nach Abschluß der Vorperiode nicht möglich. Die Präparation von Radius und Ulna und die Behandlung der Kalkzone mit Silbernitrat ist umständlich. Dazu kommt, daß die Fehlerbreite bei der Beurteilung der verschiedenen Heilungsgrade ziemlich groß ist. Der Wachstums- und der Faeces p_H-Test sind für eine genaue Auswertung ebenfalls ungeeignet, da beide Methoden zu große biologische Schwankungen haben.

Somit bleibt zur Besprechung nur noch der prophylaktische und kurative Röntgentest. Bei beiden Methoden bleiben die Tiere am Leben und können in der Zucht später für andere Zwecke wieder verwandt werden. Nach Abwägung der Vor- und Nachteile beider Methoden gegeneinander haben wir uns zur Anwendung des kurativen Verfahrens entschlossen. Denn der einzige Vorteil der kürzeren Versuchsdauer beim prophylaktischen Test ist nur ein scheinbarer. Die Vorfütterung der Versuchstiere, die Einteilung in Würfe und die Unterscheidung verschiedener Resistenzgrade erfordern entsprechend mehr Zeit, Tiermaterial und Arbeitsaufwand. Das prophylaktische Verfahren besitzt, wie ausführlich beschrieben wurde, andererseits wiederum mehr Fehlermöglichkeiten wie das entsprechende Kurativverfahren, da die Rachitisbereitsschaft = Resistenz der Tiere nur nach dem Rachitisgrad eines unbehandelten Kontrolltieres und nicht wie beim Kurativtest an jedem einzelnen Tier im Voraus bestimmt werden kann.

Zur Auswertung benutzten wir eine von uns modifizierte Form des kurativen Röntgenverfahrens von Bourdillon-Bruce-Webster[13]*. Die Methode, wie sie von uns im einzelnen ausgeführt wurde, sei im folgenden näher beschrieben:

Sämtliche Versuche werden an männlichen und weiblichen weißen und schwarz-weißen Ratten aus eigener Zucht ausgeführt. Sowohl die später in den Versuch kommenden Ratten als auch die entsprechenden Muttertiere erhalten Mischfutter aus Kartoffeln, Fleisch, Brot und Gemüse. Die Räume, in denen die Zucht gehalten wird, sind vor direktem Sonnenlicht geschützt. Aus dieser Zucht werden Tiere mit einem Gewicht von 55—80 g ausgewählt. Im Gegensatz zu allen bisherigen Versuchsanordnungen sind unsere Tiere um 20—30 g schwerer, d. h. 2—3 Wochen älter. Der Vorteil der Auswahl älterer Tiere besteht darin, daß diese einerseits ein recht gutes Wachstum zeigen und nicht so leicht während des Versuchs an Infekten zugrunde gehen wie kleinere Tiere, andererseits die Veränderungen an den Knochen im Röntgenbild klarer zu erkennen und in ihren verschiedenen Stadien zu unterscheiden sind. Nach dem Wiegen werden die Tiere gezeichnet und zur Auswertung in einen gut lüftbaren vollständig verdunkelten Raum zu je 3—4 Tieren nach Geschlechtern getrennt in Käfige untergebracht. Die Raumtemperatur soll 20—22° C betragen. Die Käfige bestehen aus Metalldraht in einer Größe von 20 × 20 × 25 cm. Die Maschenweite des Drahtes ist so groß, daß der Kot durchfallen kann und nicht zuviel von dem zerbröckelnden Futter verlorengeht. Der Kot fällt in Schubladen, die täglich gereinigt werden. Als Wasserbehälter dient eine in den Käfig ragende Trinkflasche aus Glas. Holzwolle oder Metallplatten zum Sitzen sowie Schalen für das Futter dürfen nicht in den Käfig gebracht werden, da sonst der Kot nicht durchfällt und die Tiere die Exkremente fressen.

Für unsere Versuche verwandten wir folgende rachitiserzeugende Nahrung, die sich gut bewährte:

Maismehl (grob gemahlen): 1520 g. Weizenkleber (extrahiert; Fa. Merck): 450 g. Calcium carbonicum praecipitatum levissimum purissimum (Fa. Merck): 70 g. Gelatinepulver: 60 g. Kochsalz: 10 g.

Diese rachitiserzeugende Kost wird folgendermaßen zubereitet:

Etwa 2—3 Liter Wasser, in das zuvor die gepulverte Gelatine und das Kochsalz geschüttet wurde, werden bis zur Klarheit der Flüssigkeit erhitzt. Über kleiner Flamme wird sodann zunächst das Maismehl, dann der Weizenkleber langsam eingerührt. Zuletzt wird das Calciumcarbonat zugegeben und die zähe Masse außerhalb der Flamme wenigstens 5—10 Mi-

[13] Bourdillon u. Mitarbeiter: l. c.[9].

* Methodische Ratschläge verdanke ich Herrn Dr. Bomskov. Außerdem bin ich zu besonderem Dank verpflichtet Herrn Prof. Langendorff, dem Leiter des Radiologischen Institutes der hiesigen Universität, der mir eine geeignete Röntgenapparatur zur Verfügung stellte.

nuten lang bis zur vollständigen Vermischung der einzelnen Bestandteile kräftig durchgerührt. Ist das Calciumcarbonat nicht gleichmäßig auf die ganze Masse verteilt, so verschiebt sich das Kalk-Phosphorverhältnis in den einzelnen Teilen der Nahrung, und die Tiere bekommen zum großen Teil keine Rachitis. Das noch warme Gemisch wird daraufhin auf ein großes, mit Olivenöl eingefettetes Kuchenblech gestrichen. Hat das Blech eine Fläche von 100 × 50 cm und breitet man darauf ein Futtergemisch von den oben angegebenen Gewichtsverhältnissen aus, so beträgt die Höhe der Teigschicht etwa 5 mm. Die mit Teig gefüllten Kuchenbleche kommen anschließend in den Eisschrank und werden hier bei 0° etwa 2—3 Stunden belassen. Der Teig ist nach dieser Zeit abgekühlt und so konsistent, daß er leicht in Quadrate von 4 × 4 cm geschnitten und von der Unterlage abgehoben werden kann. Die einzelnen Stücke werden dann auf Gemüsedörren in einem abgedunkelten warmen Raume getrocknet. Die trockenen Stücke sind hart wie Keks und werden zur Verfütterung einfach in die Käfige geworfen. 3—4 Tiere brauchen täglich etwa 6—8 Futterwürfel. Die Nahrung wird jeweils für 3 Tage bereitet, so daß an jedem dritten Tag neuer Futtervorrat hergestellt werden muß.

Während der Vorperiode werden die Tiere 14 Tage lang mit rachitogener Kost und Wasser ad libitum gefüttert. Da gerade in der Vorperiode ein Teil der Tiere leicht von Infekten, insbesondere Pneumonien, ergriffen wird, sind schwächliche oder krank aussehende Tiere sofort aus den Käfigen zu entfernen. Nach Ablauf der 14tägigen Vorperiode werden sämtliche Tiere gewogen und geröntgt. Ratten, die nicht mehr als 5 g oder über 15 g an Gewicht zugenommen haben, werden ausgeschieden.

Die Röntgenaufnahme erfolgt ohne Narkose oder Fesselung der Tiere. Aufgenommen wird das rechte Bein. Das Tier wird mit der rechten Hand in der Gegend der Metatarsi des rechten Hinterbeins, mit der linken Hand im Nacken gehalten. Die Bauchseite des Tieres sieht nach unten. Das rechte Bein wird etwas nach innen rotiert, so daß die Plantarfläche des Fußes nach oben, d. h. vom Tier aus gesehen nach hinten sieht. Dabei wird das Bein durch entgegengesetzten Zug beider Hände leicht gestreckt. Die rechte Extremität des Tieres kann bei dieser Handhabung nicht glatt auf die Tischplatte aufgelegt werden. Man beugt das Hinterbein deshalb über einen kleinen Holzklotz. Der Film liegt auf der oberen Fläche des Klotzes und bedeckt diesen gerade. Das Projektionsfeld der Röntgenröhre schließt ebenfalls genau mit den Rändern des Klotzes bzw. Films ab, so daß keine Röntgenstrahlen auf die umgebende Tischplatte fallen. Es ist aber dennoch zu empfehlen, daß die Person, welche das Tier hält, ihre Hände durch Bleihandschuhe schützt. Die Tiere verhalten sich bei diesem Verfahren meist vollkommen ruhig, so daß nur selten eine Aufnahme wiederholt werden muß.

Als Aufnahmegerät dient eine Siemens-Multix-Röntgenröhre mit Feinfokus. Die Fokus-Filmentfernung beträgt 50 cm, die effektive Belastung

44 kV, die maximale Belastung 62 kV. Die Belichtungszeit 0,3 Sekunden bei einer Stromstärke von 20 mA. Die Härte der Aufnahmen muß stets dieselbe sein. Als Filme verwandten wir Agfa-Normal-Zahnfilme in einem Format von 4×5 cm. Die Bezeichnung erfolgt durch Bleiplättchen, in welche Zahlen eingestanzt sind. Nach dem Entwickeln mit Agfa-Normal-Röntgenentwickler (Entwicklungszeit 2 Minuten), Fixieren (10 Minuten) und Wässern (2 Stunden) werden die trockenen Filme den Tiergruppen entsprechend geordnet und gruppenweise zwischen zwei Celluloidstreifen gelegt und mit Büroklammern festgeheftet. Da die Kassetten je zwei Zahnfilme enthalten, ist jede Serie in doppelter Ausführung vorhanden. Durch diese Art der Einordnung und Aufbewahrung der Filme ist es auf einfache Art und Weise möglich, jederzeit sämtliche Bilder einer Tiergruppe zu übersehen und untereinander bzw. mit Filmstreifen anderer Tiergruppen vor dem Lichtkasten zu vergleichen.

Die Auswahl der Tiere, welche nach Abschluß der Vorperiode für die therapeutische Periode Verwendung finden sollen, erfolgt auf Grund der Röntgenaufnahme am 14. Tage nach Versuchsbeginn. Die Tiere zeigen nach der 14tägigen Vorperiode zu 80—90 % eine im Röntgenbild sichtbare mittelschwere Rachitis etwa gleichen Grades. Eine mittelschwere Rachitis äußert sich in einer Verbreiterung der hellen Zone zwischen Diaphyse und Epiphyse d. h. des sogenannten Metaphysenspaltes von der Normalbreite von 0,2—0,4 mm auf 1,5—2 mm. Die Knochenbegrenzung ist unscharf. Zwischen Epi- und Diaphyse befinden sich keinerlei Kalkeinlagerungen. Mitunter sieht man eine beginnende Aushöhlung am Diaphysenende. Tiere, welche eine über den durchschnittlichen Rachitisgrad der anderen Ratten hinausgehende oder dahinter zurückbleibende Spaltbreite aufweisen, werden ausgeschieden. Ebenso Tiere, welche nicht wenigstens 5 g und solche, die über 15 g zugenommen hatten (vgl. S. 579). Sie zeigen nämlich meist auch einen vom Durchschnitt abweichenden zu engen bzw. zu breiten Metaphysenspalt. Es empfiehlt sich nicht, schlecht wachsende Ratten einer nochmaligen Vorperiode zu unterziehen. Wir haben dies mehrfach versucht, aber diese Tiere nehmen doch nicht zu und gehen bald an Infekten irgendwelcher Art zugrunde. Nach Auswahl der Tiere, die möglichst zur Hälfte aus männlichen und weiblichen Ratten bestehen sollen, werden sie in Gruppen von je 12 Ratten eingeteilt und nach Geschlechtern getrennt in Einzelkäfige zu je 3 Tieren untergebracht. Zur Beurteilung des durchschnittlichen Heilungsgrades einer Gruppe nach der folgenden 10tägigen Verabreichung verschiedener Ergosterin- und Lebertrandosen genügen 8—10 Tiere. 2 weitere Tiere sind als Ersatztiere für den etwaigen Verlust der einen oder anderen Ratte eingesetzt. Die Verteilung erfolgt ohne jede Berücksichtigung der einzelnen Würfe. Die Zahl der gleichzeitig in Versuch zu nehmenden Gruppen richtet sich, abgesehen von der Zahl der auszuwertenden Lebertrane nach dem vorhandenen Tiermaterial und der Möglichkeit der Unterbringung. Im Hinblick auf

jahreszeitliche oder sonstige Schwankungen in der Resistenz der Tiere ist es ratsam, möglichst viele Serien gleichzeitig anzusetzen. Wie aus den untenstehenden Angaben hervorgeht, kann ein Untersucher zu gleicher Zeit mehrere Lebertrane auswerten.

Um verschiedene, im Röntgenbild sichtbare Heilungsgrade an rachitischen Ratten zu erzeugen, werden den einzelnen nach Abschluß der Vorperiode zusammengestellten Tiergruppen neben rachitiserzeugender Kost steigende Dosen eines bekannten Standardpräparates gegeben. Zur Aufstellung einer solchen Standardskala benutzten wir den von der Vitaminkonferenz des Völkerbundes festgelegten Standard[14], eine 0,01 %ige Lösung von bestrahltem Ergosterin in Olivenöl. 1 mg dieser Lösung entspricht 1 MRC. (Medical Research Council-Einheit). 1 Einheit kommt demnach 0,0001 mg = 0,1 γ gleich. Der Standard wurde vom Reichsgesundheitsamt zur Verfügung gestellt. Er wird ebenso wie die entsprechenden Verdünnungen bei 0^0 im Eisschrank aufbewahrt.

Alle Tiere einer Gruppe erhalten während der Dauer von 10 Tagen täglich 0,1 ccm einer bestimmten Ergosterinstandardlösung, die durch Verdünnen des Standards mit Olivenöl hergestellt wird. Man gibt am besten einer Gruppe diejenige Dosis, von der man vermutet, daß sie eine bestehende Rachitis eben vollständig heilt. Einer zweiten Gruppe gibt man das Doppelte dieser Dosis, einer dritten drei Viertel, einer vierten die Hälfte und einer fünften Gruppe ein Viertel der Ausgangsmenge. Treten ein oder mehrere der unten beschriebenen Heilungsgrade auf dem nach 10 Tagen angefertigten Röntgenbild auf, so ist die weitere Dosierung zur Erzeugung der noch fehlenden Heilungsstadien einfach. Man geht je nach dem Ergebnis mit der täglichen Menge des Standards herauf oder herunter, bis man alle erforderlichen Rachitisgrade erhält und somit eine Standardskala aufstellen kann. Eine weitere Gruppe erhält zur Kontrolle nur rachitiserzeugende Kost und täglich 10 Tage lang 0,1 ccm des Verdünnungsmittels, also reines Olivenöl. Diese Gruppe wird ebenso wie alle anderen Gruppen am 11. Tage der therapeutischen Periode geröntgt. Alle Tiere der Kontrollgruppe müssen eine schwere Rachitis ohne jegliche Heilungsvorgänge aufweisen (= Heilungsgrad 0).

Die Verfütterung der Lösungen erfolgt mittels Pipetten, deren Inhalt auf 15 cm Länge 1 ccm beträgt und die in je 0,1 ccm eingeteilt sind. Die Tagesmenge ist in 0,1 ccm gelöst. Für jede Verdünnung des Standards bzw. der Lebertrane ist eine besondere Pipette zu benutzen, die entsprechend bezeichnet ist. Die Pipetten werden jedesmal nach Gebrauch gereinigt und getrocknet.

Eine derartige Standardskala, welche alle im Röntgenbild voneinander unterscheidbaren Heilungsstadien rachitischer Ratten umfaßt, wird

[14] Vitamins: A survey of present knowledge, London, His Majestys State Office 1932. Med. Res. Council. Spec. Rep. ser. 167.

zweimal im Jahr, einmal im Sommer und einmal im Winter aufgestellt. Wir unterscheiden folgende Heilungsgrade:

Heilungsgrad 0: Schwere Rachitis ohne jegliche Heilungserscheinungen. Metaphysenspalt auf 2—3 mm verbreitert. Keine Spur von Kalkeinlagerung. Aushöhlung des Diaphysenendes. Mitunter völlige Zerstörung und Zusammensinken des Gelenks infolge Überbelastung des rachitischen Knochens.

Heilungsgrad 1: Beginnende feine Kalkeinlagerungen am oberen und seitlichen Rande der den Metaphysenspalt begrenzenden Knochen. (Entspricht Nr. 1 der Heilungsskala von Bourdillon).

Heilungsgrad 1,5: Auftreten eines schmalen Kalkbandes in der sonst unverkalkten Zone des Metaphysenspaltes. (Entspricht Nr. 3 der Heilungsskala von Bourdillon).

Heilungsgrad 2: Auftreten eines breiten Kalkbandes in der sonst unverkalkten Zone des Metaphysenspaltes. (Entspricht Nr. 3—6 der Heilungsskala von Bourdillon).

Heilungsgrad 2,5: Beginnende Vereinigung der neu entstandenen Knochensubstanz (= früheren Verkalkungszonen) mit dem alten Knochen. Allmähliche Einengung des vordem breiten Metaphysenspaltes. (Entspricht Nr. 7—8 der Heilungsskala von Bourdillon).

Heilungsgrad 3: Vollzogene Vereinigung der neu entstandenen Knochensubstanz mit dem alten Knochen. (Entspricht Nr. 9—10 der Heilungsskala von Bourdillon).

Heilungsgrad 4: Vollkommene Heilung. Einengung des Spaltes auf die normale Breite des Metaphysenspaltes eines gesunden Tieres. Das in echten Knochen umgewandelte rachitische Gewebe hat sich vollständig mit dem alten Knochen vereinigt und ist von diesem nicht mehr zu unterscheiden. Als Zeichen einer überstandenen schweren Rachitis zeigen die den Metaphysenspalt begrenzenden Knochenenden eine spindelförmig aufgetriebene Gestalt sowie eine unregelmäßige, grobe Knochenstruktur. (Entspricht Nr. 11—12 der Heilungsskala von Bourdillon).

Bei der Beurteilung werden wiederum nur Tiere berücksichtigt, welche während der therapeutischen Periode nicht weniger als 5 g und nicht mehr als 15 g zugenommen haben.

Tabelle 1 und 2 zeigen die Aufstellung einer solchen Heilungsskala mit dem internationalen Vitamin D-Standard. In den Tabellen ist die Tiernummer, die Versuchszeit und die täglich verabreichte Menge an Vitamin D in internationalen Einheiten angegeben. Außerdem sind zur Beurteilung der verlangten Gewichtszunahmen von 5—15 g während der Vorperiode und der therapeutischen Periode die entsprechenden Körpergewichte registriert. Zuletzt ist der Heilungsgrad jedes einzelnen Tieres sowie der durchschnittliche Heilungsgrad auf den Tabellen vermerkt. Der Ausfall von Tieren infolge Tod oder mangelnder bzw. zu hoher Gewichts-

Tabelle 1. Sommerskala.

Tier Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Bemerkungen
Vorperiode	6.—20. Juni 1938										
Therapeutische Periode	21.—30. Juni 1938										
Tagesdosis	0,1 cm reines Olivenöl (Kontrollen)										
Anfangsgewicht	56	67	62	69	62	65	63	60	60	75	2 Tiere
Gewicht nach 14 Tagen	68	75	73	82	76	75	80	75	75	85	fielen aus
Endgewicht	74	86	80	97	86	86	92	82	86	92	
Heilungsgrad	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Durchschnittl. Heilungsgrad	0										

Tier Nr.	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	Bemerkungen
Vorperiode	6.—20. Juni 1938										
Therapeutische Periode	21.—30. Juni 1938										
Tagesdosis	$^1/_2$ mg i. Vitamin D-Standard = $^1/_2$ i. E. Vitamin D										
Anfangsgewicht	67	62	80	67	60	80	75	75	80	64	2 Tiere
Gewicht nach 14 Tagen	80	68	95	77	75	95	90	90	95	75	fielen aus
Endgewicht	92	75	110	92	88	110	105	105	102	80	
Heilungsgrad	1	1	1	1	1	1	1	1,5	0	1,5	
Durchschnittl. Heilungsgrad	1										

Tier Nr.	21	22	23	24	25	26	27	28	29	Bemerkungen
Vorperiode	4.—18. Juli 1938									
Therapeutische Periode	19.—28. Juli 1938									
Tagesdosis	$^3/_4$ mg = $^3/_4$ i. E. Vitamin D									
Anfangsgewicht	50	55	52	53	55	65	55	60	62	3 Tiere
Gewicht nach 14 Tagen	64	65	63	63	67	75	60	72	67	fielen aus
Endgewicht	70	73	73	68	72	88	67	80	74	
Heilungsgrad	1	1,5	1	1.5	1	1	1,5	2	1,5	
Durchschnittl. Heilungsgrad	1,33									

Tier Nr.	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	Bemerkungen
Vorperiode	6.—20. Juni 1938										
Therapeutische Periode	21.—30. Juni 1938										
Tagesdosis	1 mg = 1 i. E. Vitamin D										
Anfangsgewicht	80	67	65	62	80	57	65	75	60	60	2 Tiere
Gewicht nach 14 Tagen	90	82	77	75	95	71	80	85	75	73	fielen aus
Endgewicht	105	97	85	85	110	87	85	97	90	79	
Heilungsgrad	2	2	2	2	1,5	1,5	1,5	2	1	1	
Durchschnittl. Heilungsgrad	1,65										

Tier Nr.	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	Bemerkungen
Vorperiode	6.—20. Juni 1938										
Therapeutische Periode	21.—30. Juni 1938										
Tagesdosis	2 mg = 2 i. E. Vitamin D										
Anfangsgewicht	62	72	72	70	63	63	59	65	58	80	2 Tiere
Gewicht nach 14 Tagen	75	82	82	75	78	78	74	77	64	95	fielen aus
Endgewicht	85	87	92	88	92	93	85	89	69	110	
Heilungsgrad	2,5	2,5	2,5	2,5	1,5	2,5	1,5	1,5	2,5	2,5	
Durchschnittl. Heilungsgrad	2,20										

Tabelle 2. Winterskala*.

Tier Nr.	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	Bemerkungen
Vorperiode	17. November bis 1. Dezember 1939											
Therapeutische Periode	2.—11. Dezember 1939											
Tagesdosis	0,1 ccm reines Olivenöl (Kontrollen)											
Anfangsgewicht	45	60	58	58	57	66	63	66	60	62	62	1 Tier fiel aus
Gewicht nach 14 Tagen	55	69	70	63	63	75	70	75	65	70	67	
Endgewicht	60	74	75	68	68	80	80	80	75	75	72	
Heilungsgrad	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Durchschnittl. Heilungsgrad	0											

Tier Nr.	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	Bemerkungen
Vorperiode	17. November bis 1. Dezember 1939										
Therapeutische Periode	2.—11. Dezember 1939										
Tagesdosis	$^1/_2$ mg i. Vitamin D-Standard = $^1/_2$ i. E. Vit. D										
Anfangsgewicht	50	50	40	47	58	47	40	38	62	48	2 Tiere fielen aus
Gewicht nach 14 Tagen	65	55	55	55	70	58	48	50	70	55	
Endgewicht	71	67	60	62	75	63	53	55	78	60	
Heilungsgrad	1,5	1	1	0	1	1	1	1	1	1,5	
Durchschnittl. Heilungsgrad	1										

Tier Nr.	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	Bemerkungen
Vorperiode	17. November bis 1. Dezember 1939										
Therapeutische Periode	2.—11. Dezember 1939										
Tagesdosis	$^3/_4$ mg = $^3/_4$ i. E. Vitamin D										
Anfangsgewicht	50	42	42	43	43	60	41	74	50	50	2 Tiere fielen aus
Gewicht nach 14 Tagen	55	52	60	50	55	73	56	79	65	55	
Endgewicht	60	57	71	55	60	78	63	86	75	60	
Heilungsgrad	1	1	1,5	1,5	1	1,5	1,5	1	1	1	
Durchschnittl. Heilungsgrad	1,2										

Tier Nr.	81	82	83	84	85	86	87	Bemerkungen
Vorperiode	17. November bis 1. Dezember 1939							
Therapeutische Periode	2.—11. Dezember 1939							
Tagesdosis	1 mg = 1 i. E. Vitamin D							
Anfangsgewicht	42	44	69	48	58	60	35	5 Tiere fielen aus
Gewicht nach 14 Tagen	55	58	84	62	68	75	48	
Endgewicht	60	64	94	67	75	80	54	
Heilungsgrad	1,5	1,5	2	1,5	2	1,5	1,5	
Durchschnittl. Heilungsgrad	1,64							

Tier Nr.	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	Bemerkungen
Vorperiode	17. November bis 1. Dezember 1939										
Therapeutische Periode	2.—11. Dezember 1939										
Tagesdosis	2 mg = i. E. Vitamin D										
Anfangsgewicht	50	42	55	36	55	45	43	62	50	45	2 Tiere fielen aus
Gewicht nach 14 Tagen	62	50	70	45	70	55	50	70	60	55	
Endgewicht	67	55	78	50	78	60	61	83	74	60	
Heilungsgrad	2,5	2,5	3	2,5	2,5	1,5	1,5	1,5	3	3	
Durchschnittl. Heilungsgrad	2,35										

* Infolge Tiermangels während des Krieges wurden bei der Aufstellung dieser Skala um etwa 10 g leichtere Tiere verwandt.

zunahme während der therapeutischen Periode ist in den Bemerkungen verzeichnet. Wir haben eine Heilungsskala für den Sommer und eine für den Winter aufgestellt. Je eine Tiergruppe zu 12 Tieren erhielt $^1/_2$, $^3/_4$, 1 und 2 internationale Einheiten Vitamin D pro Tag bzw. zur Kontrolle 0,1 ccm Olivenöl. Als Ergebnis der Auswertung erhielten wir für die Sommerskala die durchschnittlichen Heilungsstadien 1, 1,33, 1,65 und 2,20; für die Winterskala die Werte 1, 1,2, 1,64 und 2,35. Die Kontrollgruppen zeigten im Sommer und Winter den durchschnittlichen Heilungsgrad 0 (s. Tabelle 1 und 2).

Berechnet man nach der Formel $\varepsilon = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n\,(n-1)}}$ [15] für jede in der Sommer- und Winterskala aufgeführte Gruppe den mittleren Fehler, so ergibt sich folgendes Resultat:

1. Gruppe: Tagesdosis $^1/_2$ i. E. Sommerskala: durchschnittlicher Heilungsgrad 1. Mittlerer Fehler $\pm$ 0,127 = 12,7 % des durchschnittlichen Heilungsgrades. Winterskala: durchschnittlicher Heilungsgrad 1. Mittlerer Fehler $\pm$ 0,127 = 12,7 % des durchschnittlichen Heilungsgrades.

2. Gruppe: Tagesdosis $^3/_4$ i. E. Sommerskala: durchschnittlicher Heilungsgrad 1,33. Mittlrer Fehler $\pm$ 0,118 = 8,8 % des durchschnittlichen Heilungsgrades. Winterskala: durchschnittlicher Heilungsgrad 1,2. Mittlerer Fehler $\pm$ 0,078 = 6,5 % des durchschnittlichen Heilungsgrades.

3. Gruppe: Tagesdosis 1 i. E. Sommerskala: durchschnittlicher Heilungsgrad 1,65. Mittlerer Fehler $\pm$ 0,127 = 7,7 % des durchschnittlichen Heilungsgrades. Winterskala: durchschnittlicher Heilungsgrad 1,64. Mittlerer Fehler $\pm$ 0,09 = 5,5 % des durchschnittlichen Heilungsgrades.

4. Gruppe: Tagesdosis 2 i. E. Sommerskala: durchschnittlicher Heilungsgrad 2,20. Mittlerer Fehler $\pm$ 0,152 = 6,9 % des durchschnittlichen Heilungsgrades. Winterskala: durchschnittlicher Heilungsgrad 2,35. Mittlerer Fehler $\pm$ 0,195 = 8,3 % des durchschnittlichen Heilungsgrades.

Aus diesen Daten geht hervor, daß bei allen von uns erzielten Heilungsgraden von 1—2,35 eine hinreichende Genauigkeit gewährleistet ist, da nämlich der mittlere Fehler in allen Fällen unter $33^1/_3$ % liegt. Außerdem ist aber ersichtlich, daß der mittlere Fehler mit der Erhöhung des durchschnittlichen Heilungsgrades sinkt, d. h. die Auswertung im Bereich des Heilungsgrades 2 die genauesten Ergebnisse liefert.

Sodann stellten wir fest, ob die Differenz der Resultate nach zweimaliger Auswertung derselben Dosis eines bekannten Vitamin D-Präparates mittels unserer Methode über die einer biologischen Methode zugebilligte Fehlerbreite hinausgeht oder unter diesem Zahlenwert liegt. Dazu benutzten wir die Formel $\frac{m_1 - m_2}{\sqrt{\varepsilon_1^2 + \varepsilon_2^2}}$ [16], wobei m_1 und m_2 die Mittelwerte der beiden

---

[15] Burn: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin, Julius Springer, 1937. — [16] Burn: l. c. [15].

Resultate. ε_1 und ε_2 die entsprechenden mittleren Fehler sind. Von biologischen Auswertungsmethoden wird im allgemeinen verlangt, daß der mit der obigen Formel berechnete Zahlenwert weniger als 2 beträgt, falls die Differenz nicht „significant" sein soll. Wir führten die Berechnung wiederum nach den Tabellen 1 und 2 durch. Dabei ergab sich folgendes Resultat:

1. Gruppe: Nach zweimaliger Verabreichung von $^1/_2$ i. E. ergab sich kein Unterschied der durchschnittlichen Heilungsgrade. Der Formelwert betrug also 0.

2. Gruppe: Nach zweimaliger Verabreichung von $^3/_4$ i. E. ergab sich ein Unterschied der durchschnittlichen Heilungsgrade von 0.13. Der mittlere Fehler beider Auswertungen beträgt $\pm$ 0.141. Aus der obigen Formel errechnet sich also ein Wert von 0,92.

3. Gruppe: Nach zweimaliger Verabreichung von 1 i. E. ergab sich ein Unterschied der durchschnittlichen Heilungsgrade von 0.01. $\sqrt{\varepsilon_1^2 + \varepsilon_2^2}$ betrug $\pm$ 0,155, es ergab sich also nach der Formel ein Zahlenwert von 0,06.

4. Gruppe: Nach zweimaliger Verabreichung von 2 i. E. ergab sich ein Unterschied der durchschnittlichen Heilungsgrade von 0.15. $\sqrt{\varepsilon_1^2 - \varepsilon_2^2}$ betrug $\pm$ 0,247, der Formelwert also 0,6.

In allen Auswertungen gleicher Dosen eines bekannten Vitamin D-Präparates liegen bei der von uns durchgeführten Methode sämtliche nach der Formel berechneten Zahlenwerte weit unter 2, das bedeutet also, daß die Methode eine hinreichende Genauigkeit verbürgt und die auftretenden Differenzen bei mehrmaliger Auswertung derselben Dosis innerhalb der normalen Fehlerbreite einer biologischen Auswertungsmethode liegen.

Trägt man die in den Tabellen 1 und 2 gefundenen Zahlenwerte der durchschnittlichen Heilungsgrade auf der Ordinate, die zur Erzeugung dieser Stadien notwendigen internationalen Vitamin D-Einheiten auf der Abszisse ein, so erhalten wir eine Eichkurve (Abb. 1), aus der sich der Gehalt eines unbekannten Präparates in internationalen Einheiten ablesen läßt. Die Kurve verläuft logarithmisch, d. h. die Beziehung des Logarithmus der Dosis zum Durchschnittseffekt an einer Tiergruppe ist linear (vgl. Abb. 1). Wie aus den eingezeichneten Punkten hervorgeht, fiel bei unserer Zucht Sommer- und Winterkurve zusammen.

Gleichzeitig oder nach Aufstellung der Standardskala erhalten Gruppen von je 12 Ratten nach Abschluß der Vorperiode neben rachitiserzeugender Kost verschieden hohe Dosen des unbekannten Lebertrans.

Als Verdünnungsmittel für die Trane dient ebenfalls Olivenöl, für die Emulsionen destilliertes Wasser. Die Tagesdosis ist auch in 0,1 ccm enthalten. Die Verfütterung erfolgt in gleicher Weise wie bei den Ergosterinstandardlösungen.

Die Auswertung der erhaltenen Ergebnisse geschieht so, daß die in Celluloidstreifen nach Gruppen geordneten Röntgenbilder, welche am 11. Tage der therapeutischen Periode je nach Dosierung verschiedene Rachitisgrade zeigen, mit den Bildern der Standardskala verglichen werden. Nach Feststellung des durchschnittlichen Heilungsgrades einer Gruppe wird nach der Eichkurve die Zahl der zur Erzeugung des betreffenden Heilungsstadiums notwendigen internationalen Vitamin D-Einheiten bestimmt. Die in den Lebertranen pro g enthaltene Menge an Vitamin D, ausgedrückt in internationalen Einheiten, läßt sich nach der verabreichten

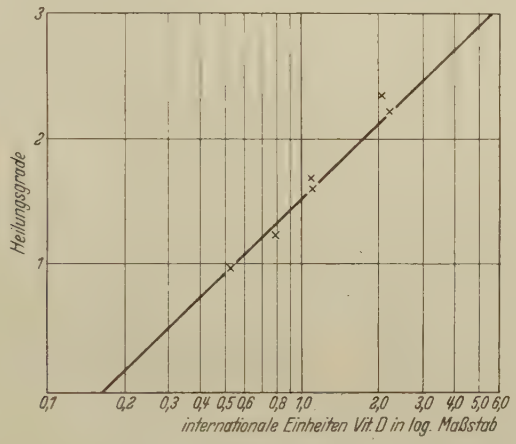


Abb. 1.

Tagesmenge leicht errechnen. Für die Auswertung eines Lebertrans genügt die Erreichung eines Heilungsgrades im Bereich 1—3.

Wir haben nach dem beschriebenen Verfahren 10 uns vom Reichsgesundheitsamt zur Untersuchung übergebene Lebertrane ausgewertet:

1. Einen frischen Deutschen Lebertran („Neybabo").
2. Einen frischen Norwegischen Lebertran („Gelbsiegel").
3. Eine frische Lebertranemulsion („Nattermann").
4. Eine weitere frische Emulsion („Scott").
5. Den Deutschen Lebertran nach 120tägiger Sauerstoffbehandlung.
6. Den Norwegischen Lebertran nach 120tägiger Sauerstoffbehandlung.
7. und 8. Die Lebertrane 5 und 6 nach weiterer 16monatiger Aufbewahrung.
9. und 10. Die Lebertranemulsionen „Nattermann" und „Scott" nach 18monatiger Aufbewahrung.

Die Versuchsergebnisse werden wiederum in Form von Tabellen registriert, auf welchen die Tiernummer, Versuchsdauer, Körpergewichte, Tagesdosis, Heilungsgrad und durchschnittlicher Heilungsgrad angegeben

Tabelle 3. Deutscher Lebertran („Neybabo").

Tier Nr.	98	99	100	101	102	103	104	105	106	Bemerkungen
Vorperiode	14.—28. Juli 1938									
Therapeutische Periode	29. Juli bis 8. August 1938									
Tagesdosis	10 mg									
Anfangsgewicht	83	55	59	66	62	70	60	57	66	3 Tiere
Gewicht nach 14 Tagen	98	70	74	74	77	75	65	63	81	fielen aus
Endgewicht	113	80	89	89	92	80	80	70	96	
Heilungsgrad	2,5	2	3	2,5	2,5	1,5	2,5	2,5	3	
Durchschnittl. Heilungsgrad	2,44 = 2,5 i. E. Vitamin D. in 10 mg Tran									
Wirksamkeit	1 g Tran enthält 250 i. E. Vitamin D									

Tabelle 4. Norwegischer Lebertran („Gelbsiegel").

Tier Nr.	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	Bemerkungen
Vorperiode	9.—23. Juni 1938										
Therapeutische Periode	24. Juni bis 3. Juli 1938										
Tagesdosis	10 mg										
Anfangsgewicht	58	57	63	66	70	57	70	65	65	57	2 Tiere
Gewicht nach 14 Tagen	68	65	70	78	84	70	82	75	77	65	fielen aus
Endgewicht	77	75	78	93	95	80	90	88	86	75	
Heilungsgrad	1	1	2,5	2	1,5	1,5	3	2	1	2,5	
Durchschnittl. Heilungsgrad	1,80 = 1,3 i. E. Vitamin D. in 10 mg Tran										
Wirksamkeit	1 g Tran enthält 130 i. E. Vitamin D.										

Tabelle 5. Lebertranemulsion „Nattermann".

Tier Nr.	117	118	119	120	121	122	123	124	125	Bemerkungen
Vorperiode	14.—28. Juli 1938									
Therapeutische Periode	29. Juli bis 8. August 1938									
Tagesdosis	10 mg									
Anfangsgewicht	65	63	54	56	71	55	80	65	67	3 Tiere
Gewicht nach 14 Tagen	76	77	65	71	86	61	87	70	76	fielen aus
Endgewicht	85	90	73	85	92	66	94	75	80	
Heilungsgrad	1,5	1,5	1	1,5	0	1	1	0	1	
Durchschnittl. Heilungsgrad	0,94 = 0,45 i. E. Vitamin D in 10 mg Tran									
Wirksamkeit	1 g Tran enthält 45 i. E. Vitamin D									

Tabelle 6. Lebertranemulsion „Scott".

Tier Nr.	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	Bemerkungen
Vorperiode	4.—18. August 1938												
Therapeutische Periode	19.—28. August 1938												
Tagesdosis	10 mg												
Anfangsgewicht	61	53	63	61	76	52	60	65	67	80	60	56	
Gewicht nach 14 Tagen	74	60	70	70	81	60	68	70	74	95	75	66	
Endgewicht	79	67	75	76	90	67	77	76	81	102	90	76	
Heilungsgrad	1	1	1	1,5	0	0	1,5	0	0	1	1	0	
Durchschnittl. Heilungsgrad	0,58 = 0,31 i. E. Vitamin D in 10 mg Tran												
Wirksamkeit	1 g Tran enthält 31 i. E. Vitamin D												

Tabelle 7. Deutscher Lebertran („Neybabo“) 120 Tage unter O_2-Behandlung.

Tier Nr.	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	
Vorperiode	6.—20. September 1938										Bemerkungen
Therapeutische Periode	21.–30. September 1938										
Tagesdosis	10 mg										
Anfangsgewicht	73	71	75	73	69	74	75	74	74	73	2 Tiere
Gewicht nach 14 Tagen	88	86	90	85	74	89	90	83	89	85	fielen aus
Endgewicht	103	100	105	100	90	104	101	98	100	100	
Heilungsgrad	1,5	1	1	0	1	0	1,5	0	1	1	
Durchschnittl. Heilungsgrad	0,88 = 0,44 i. E. Vitamin D in 10 mg Tran										
Wirksamkeit	1 g Tran enthält 44 i. E. Vitamin D										

Tabelle 8. Norwegischer Lebertran („Gelbsiegel“) 120 Tage unter O_2-Behandlung.

Tier Nr.	148	149	150	151	152	153	154	155	156	
Vorperiode	6.—20. September 1938									Bemerkungen
Therapeutische Periode	21.—30. September 1938									
Tagesdosis	10 mg									
Anfangsgewicht	75	72	65	76	72	50	59	72	72	3 Tiere
Gewicht nach 14 Tagen	90	77	80	88	87	60	74	87	84	fielen aus
Endgewicht	105	82	95	102	102	75	79	102	99	
Heilungsgrad	1	1	0	0	1	1	0	1	1	
Durchschnittl. Heilungsgrad	0,66 = 0,34 i. E. Vitamin D in 10 mg Tran									
Wirksamkeit	1 g Tran enthält 34 i. E. Vitamin D									

Tabelle 9. Deutscher Lebertran („Neybabo“) 120 Tage unter O_2-Behandlung. Kontrolluntersuchung nach 16 Monaten.

Tier Nr.	157	158	159	160	161	
Vorperiode	15.—29. Januar 1940					Bemerkungen
Therapeutische Periode	30. Januar bis 8. Februar 1940					
Tagesdosis	25 mg					
Anfangsgewicht	60	60	70	60	75	7 Tiere
Gewicht nach 14 Tagen	75	75	78	72	90	fielen aus
Endgewicht	80	87	85	77	95	
Heilungsgrad	1,5	1,5	2	1,5	1,5	
Durchschnittl. Heilungsgrad	1,60 = 1 i. E. Vitamin D in 25 mg Tran					
Wirksamkeit	1 g Tran enthält 40 i. E. Vitamin D					

Tabelle 10. Norwegischer Lebertran („Gelbsiegel“) 120 Tage unter O_2-Behandlung. Kontrolluntersuchung nach 16 Monaten.

Tier Nr.	162	163	164	165	166	167	168	169	
Vorperiode	15.—29. Januar 1940								Bemerkungen
Therapeutische Periode	30. Januar bis 8. Februar 1940								
Tagesdosis	50 mg								
Anfangsgewicht	62	64	62	65	60	57	59	57	4 Tiere
Gewicht nach 14 Tagen	74	79	74	79	75	63	75	65	fielen aus
Endgewicht	80	94	82	85	85	75	80	70	
Heilungsgrad	2	2	2	2	2,5	2	2	2,5	
Durchschnittl. Heilungsgrad	2,12 = 1,8 i. E. Vitamin D in 50 mg Tran								
Wirksamkeit	1 g Tran enthält 36 i. E. Vitamin D								

Tabelle 11. Lebertranemulsion „Nattermann" nach 18 monatiger Aufbewahrungszeit.

Tier Nr.	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	Bemerkungen
Vorperiode	15.—29. Januar 1940										
Therapeutische Periode	30. Januar bis 8. Februar 1940										
Tagesdosis	50 mg										
Anfangsgewicht	60	62	60	70	60	60	59	60	60	57	2 Tiere
Gewicht nach 14 Tagen	75	76	69	81	70	76	66	69	73	68	fielen aus
Endgewicht	80	90	72	90	85	82	72	80	78	73	
Heilungsgrad	2	2	2	2	2	2	1,5	2	2	2	
Durchschnittl. Heilungsgrad	1,95 = 1,5 i. E. Vitamin D in 50 mg Tran										
Wirksamkeit	1 g Tran enthält 30 i. E. Vitamin D										

Tabelle 12. Lebertranemulsion „Scott" nach 18 monatiger Aufbewahrungszeit.

Tier Nr.	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	Bemerkungen
Vorperiode	15.—29. Januar 1940											
Therapeutische Periode	30. Januar bis 8. Februar 1940											
Tagesdosis	50 mg											
Anfangsgewicht	65	60	58	57	70	65	60	60	60	70	70	1 Tier
Gewicht nach 14 Tagen	70	70	67	72	79	72	73	74	70	82	80	fiel aus
Endgewicht	80	85	77	85	85	82	85	85	79	90	95	
Heilungsgrad	2	2	2	2	2,5	1,5	1,5	2	2	1,5	2,5	
Durchschnittl. Heilungsgrad	1,95 = 1,5 i. E. Vitamin D in 50 mg Tran											
Wirksamkeit	1 g Tran enthält 30 i. E. Vitamin D											

Tabelle 13.

Lebertrane	Gehalt des frischen Trans	Gehalt nach 18-monatiger Aufbewahrung	Gehalt nach O_2-Behandlung (120 Tage)	Gehalt nach O_2-Behandlung (120 Tage) und 16 monatiger Aufbewahrung
Deutscher Lebertran („Neybabo")	250 i. E.	—	44 i. E.	40 i. E.
Norwegischer Lebertran („Gelbsiegel").	130 i. E.	—	34 i. E.	36 i. E.
Lebertranemulsion „Nattermann"	45 i. E.	30 i. E.	—	—
Lebertranemulsion „Scott"	31 i. E.	30 i. E.	—	—

sind (Tabelle 3—12). Außerdem ist die Wirksamkeit des Tranes auf jeder Tabelle verzeichnet und in einer besonderen Tabelle nochmals zusammengefaßt.

Wir haben auch für die Lebertrane die jeweilige Streuung innerhalb einer Gruppe bestimmt.

Berechnet man nach der Formel $\varepsilon = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n(n-1)}}$ für jede der in Tabelle 3—6 aufgeführten Lebertranauswertungen den mittleren Fehler, so ergibt sich folgendes Resultat:

1. Für den durchschnittlichen Heilungsgrad 2,44 der Auswertung des Deutschen Lebertranes (Tabelle 3) ein mittlerer Fehler von $\pm$ 0,155, das entspricht 6,3 % des durchschnittlichen Heilungsgrades.

2. Für den durchschnittlichen Heilungsgrad 1,80 der Auswertung des Norwegischen Lebertranes (Tabelle 4) ein mittlerer Fehler von — 0,224, das entspricht 12,4 % des durchschnittlichen Heilungsgrades.

3. Für den durchschnittlichen Heilungsgrad 0,94 der Auswertung der Lebertranemulsion „Nattermann" (Tabelle 5) ein mittlerer Fehler von $\pm$ 0,192 = 20,4 % des durchschnittlichen Heilungsgrades.

4. Für den durchschnittlichen Heilungsgrad 0,58 der Auswertung der Lebertranemulsion „Scott" (Tabelle 6) ein mittlerer Fehler von $\pm$ 0,179 = 30,8 % des durchschnittlichen Heilungsgrades.

Aus diesen Daten geht hervor, daß auch bei der Auswertung der Lebertrane für alle von uns erzielten Heilungsgrade von 0,58—2,4 eine hinreichende Genauigkeit gewährleistet ist. Auch hier zeigt die Auswertung im Bereiche von 1,8—2,4 den geringsten mittleren Fehler. Bei den Emulsionen muß man im allgemeinen mit einer höheren Streuung als bei den natürlichen Tranen oder bei Standardpräparaten rechnen.

Nach dem beschriebenen, von uns angewandten Verfahren ergaben sich für die vier Lebertrane bzw. Lebertranemulsionen vor und nach Behandlung mit Sauerstoff sowie nach längerer Aufbewahrung die in der Tabelle 13 zusammengestellten und durch die Protokolle in Tabelle 3—12 belegten Werte. Aus der Tabelle 13 geht hervor, daß der Gehalt der Lebertranemulsionen an Vitamin D gegenüber den natürlichen Tranen bedeutend geringer ist. Die mit Sauerstoff behandelten Trane verlieren erheblich an Wirksamkeit. Dagegen halten sich die natürlichen Trane bei guter Aufbewahrung (gut verschlossen in dunklen Gläsern bei 0^0) jahrelang, wie unsere Kontrolluntersuchungen ergaben. Die Haltbarkeit der einen von uns geprüften Emulsion war trotz guter Aufbewahrung geringer. Sie verlor innerhalb von 18 Monaten ein Drittel ihrer Wirksamkeit. Die andere Emulsion zeigte keine Abnahme ihres ursprünglichen Vitamin D-Gehaltes.

Zusammenfassung.

1. Die bisher bekannten Auswertungsverfahren auf Vitamin D werden besprochen.

2. Der Gehalt von vier handelsüblichen Lebertranen, darunter zwei Emulsionen, an Vitamin D wurde mit Hilfe eines kurativen Röntgentestes vor und nach Sauerstoffbehandlung bzw. nach längerer Aufbewahrung nach einem näher beschriebenen von uns modifizierten Verfahren nach Bourdillon bestimmt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Ein Beitrag zum Nachweis der cholinergischen Gefäßinnervation.

Von

Fritz Zinnitz und **August Amann.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. Mai 1940.)

Den Versuchen dieser Arbeit liegt die Annahme zugrunde, daß die Regulierung der Herz- und Kreislauftätigkeit im lebenden Organismus, die der Steuerung durch nervöse Impulse unterliegt, im gleichen Sinne von den chemischen Überträgerstoffen des vegetativen Nervensystems, die als Träger dieser Impulse angenommen werden, mitbestimmt wird. Da das Acetylcholin als Vagusstoff[1] für die sympathisch-parasympathischen Wechselbeziehungen während der Tätigkeit des vegetativen Nervensystems eine maßgebliche Rolle spielt, wurde bei den hier durchgeführten Versuchen die Wirkung dieses Stoffes benutzt, um an der Latenz, Intensität und Dauer des Vaguseffektes auf Herz und Gefäße in Abhängigkeit von der dem tierischen Organismus zugeführten Acetylcholinmenge einen Schluß auf die Verhältnisse unter den chemischen Reaktionspartnern beim Zustandekommen nervöser Reizwirkungen des vegetativen Systems ziehen zu können. Aber nicht allein auf dem Wege der Störung des Acetylcholingehaltes des tätigen Organismus durch Zufuhr von Acetylcholin in das Blut, bei der es mit der Erhöhung der Acetylcholinkonzentration des Blutes ebenfalls am Wirkungsort cholinergischer Nerven zu einer Steigerung kommen muß, sondern auch mit Hilfe der gesteigerten Eigenproduktion von Acetylcholin im Körper durch elektrische Vagusreizung wurden die Unterschiede in der Stärke des Vagustonus in ihren Auswirkungen auf die Regulierung der Herz- und Kreislauftätigkeit beobachtet. Ein Stoff wie Acetylcholin eignet sich hierzu um so besser, als er seinem Charakter nach ein Straubscher Potentialstoff[2] ist, der unabhängig von der absolut im tierischen Organismus vorhandenen Acetylcholinmenge bei seiner chemischen Übertragung des Nervenreizes allein von dem am Wirkungsort sich bildenden Konzentrationsgefälle, das durch die hydrolytische Spaltung dieses Esters mittels der Esterase zustande kommt, abhängig ist. Man ersieht daraus, daß es bei der cholinergischen Nervenwirkung nicht allein auf die Acetylcholinkonzentration am Wirkungsort ankommt, sondern

[1] Löwi, O.: Pflügers Arch. **189**, 239 (1921); ebenda **193**, 201 (1922). — [2] Kahlson, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **168**, 44 (1932).

in gleichem Maße auch auf die Esterasekonzentration. Erst durch das Zusammenwirken beider kann der Vagustonus stärker oder schwächer werden. Bei einem hohen Niveau des Acetylcholinpotentialgefälles mit starker Acetylcholin- und Esterasekonzentration wird der Vagustonus gesteigert und umgekehrt herabgemindert.

Im Sinne dieser Betrachtungen kommen die Ergebnisse der in dieser Arbeit vorliegenden Versuche so zustande, daß durch die Zufuhr des einen Reaktionspartners Acetylcholin die im lebenden Organismus ein dynamisches Gleichgewicht haltenden sympathisch-parasympathischen Wechselbeziehungen zugunsten des parasympathischen Anteils gestört und durch Inangriffnahme freiwirksamer Esterase ein höheres Acetylcholinpotentialgefälle, das eine Verstärkung des Vagustonus zur Folge hat, entsteht. Solange noch Esterase für den Acetylcholinverseifungsprozeß vorhanden ist, kann somit das Potentialgefälleniveau erhöht werden. Die obere Grenzziehung für die Acetylcholinwirkung kann hiernach in einer Erschöpfung des zu freier Wirkung vorhandenen Esterasevorrates begründet sein. Andererseits stehen aber dem Organismus zur Verhütung einer völligen Verausgabung noch Sicherungsfaktoren in Form von gegenregulatorischen Vorgängen adrenergischer Natur[3] oder Permeabilitätsveränderungen[4] infolge cerebraler Einflüsse an den Zellgrenzflächen der Wirkungsorte cholinergischer Nerven, die den Zutritt freiwirksamer Esterase in das Zellinnere verhindern, zur Verfügung. Bei der Durchführung der Acetylcholindauerinfusionen wurden die zugeführten Mengen stets so gewählt, daß in einzelnen Etappen das Wirkungsmaximum im Organismus erreicht wurde. Auch bei der elektrischen Vagusreizung wurden die Intensitäten mehr und mehr bis zum höchsten Leistungsniveau der Vaguszellen gesteigert. Wie die vorliegenden Versuchsergebnisse zeigen, werden die Störungen der gleichgewichtigen Reaktionen von Vagus und Sympathicus durch elektrische Reizung vom Organismus durch Aktivierung der obengenannten Sicherungsfaktoren stärker beantwortet als bei den Acetylcholindauerinfusionen.

In einer früheren Arbeit[5] konnte in Versuchen am Froschherzen gezeigt werden, daß die bei der Acetylcholinwirkung auftretenden einzelnen Stadien der Veränderung der Hubhöhe, der Bradykardie und des Herzstillstandes mit der Ausbildung eines bestimmten Acetylcholinpotentialgefälleniveaus in Zusammenhang gebracht werden können. Die Versuche dieser Arbeit sollen zeigen, welche Rolle beim Warmblüter die Acetylcholinkonzentration des Blutes und am Wirkungsort cholinergischer Nerven bei der Wirkung auf Herz- und Gefäßsystem spielt.

---

[3] Gremels, H., u. F. Zinnitz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 79 (1938). — [4] Zinnitz, F.: Ebenda **194**, 316 (1940). — [5] Zinnitz, F.: Ebenda **189**, 697 (1938).

Methode.

Der Blutdruck von Katzen, die mit 80 mg/kg Chloralose narkotisiert waren, wurde an der Arteria carotis mit Hilfe der Trendelenburgschen Gegenstrominfusionsapparatur gemessen und mit einem Quecksilbermanometer fortlaufend registriert. Was die Beurteilung der Herztätigkeit betrifft, so wurde die Ventrikelschlagfolge direkt aus der Pulskurve abgelesen. Außerdem aber wurde die Frequenz des rechten Vorhofs mittels eines Kontakthebels und einer elektromagnetischen Registriervorrichtung fortlaufend aufgezeichnet. Der Kontakthebel, der von Gremels[6] beschrieben worden ist, war durch einen Seidenfaden mit dem rechten Herzohr verbunden, nachdem der Thorax des Versuchstieres in der Mittellinie eröffnet war. Kurz vor der Thoraxeröffnung wurde mit der künstlichen Beatmung des Tieres begonnen. Bei jeder Vorhofskontraktion kommt es zu einem Stromschluß im System des Kontakthebels. Jeder einzelne Stromschluß wird selbst bei schnellster Aufeinanderfolge auf eine elektromagnetische Registriervorrichtung, die von Forst[7] beschrieben worden ist, übertragen. Die elektromagnetische Registriervorrichtung zeichnet die Zeit der Vorhofskontraktion als Abszisse auf. Die Abbildungen zeigen, daß selbst bei hoher Frequenz jeder einzelne Stromschluß deutlich sichtbar wird. Durch einen Vergleich der Pulskurve, die die Ventrikelschlagfolge anzeigt, mit den Aufzeichnungen der Registriervorrichtung, die den Ablauf der Vorhofsbewegung nachweist, läßt sich jede Überleitungsstörung erkennen. Die fortlaufenden Aufzeichnungen der Stromschlüsse wurden am Kymographion bei langsamem und schnellem Gang beobachtet. Die Verwendung der Apparatur erwies sich bei der Durchführung der Versuche für jede Gangart als brauchbar. Da nämlich jeder Stromschluß des Kontakthebels die Schreibhebelspitze der Registriervorrichtung um 1 mm hebt oder senkt, und der Hebel nach jedem 50. Stromschluß seine Richtung in der Aufzeichnung ändert, so kann auch bei langsamem Gang des Kymographions über größere Zeitintervalle die Zahl der Vorhofkontraktionen leicht und bequem errechnet werden. Bei entsprechend schneller Gangart des Kymographions und gleichzeitiger Aufzeichnung kurzer Zeitintervalle ($^1/_5$ Sekunden mit dem Jaquetschen Zeitschreiber bei den vorliegenden Versuchen) ist es mit Hilfe der Abszissenschreibung der Vorhofsbewegungen möglich, die einzelnen Kontraktionsanteile pro Sekunde von der geschriebenen Kurve des Kymographions direkt abzulesen. Kontakthebel und Registriervorrichtung stammen von Heuwing[8]. Die elektrische Vagusreizung erfolgte am Hals des Versuchstieres durch Wechselströme, die in einem Schwingungskreis erzeugt wurden. Die verwendeten Elektroden waren polarisierbar. Zur Dauerinfusion wurde eine Glasapparatur,

---

[6] Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 360 (1935). — [7] Forst, A. W.: Ebenda **189**, 288 (1938); **192**, 257 (1939). — [8] Heuwing, K.: Konstrukteur und Hersteller, feinmechanische Werkstätte des Pharmakologischen Instituts der Universität München.

die a. a. O.[4] veröffentlicht worden ist, verwendet. Das Acetylcholinchlorid wurde in die Vena jugularis externa infundiert.

Besprechung der Versuche.

Die Blutdruckkurve von Abb. 1 stellt die blutdrucksenkende Wirkung einer Acetylcholindauerinfusion von 12 γ/Min. in dem durch die Pfeile bei *A* und *B* bezeichneten Abschnitt dar. Die Höhe des Blutdrucks zu Beginn der Acetylcholinchloridinfusion betrug 60 mm Hg. Nach Eröffnung des Thorax und gleichzeitig einsetzender künstlicher Beatmung der Lungen des Versuchstieres sinkt der Blutdruck meist auf ein so niedriges Niveau

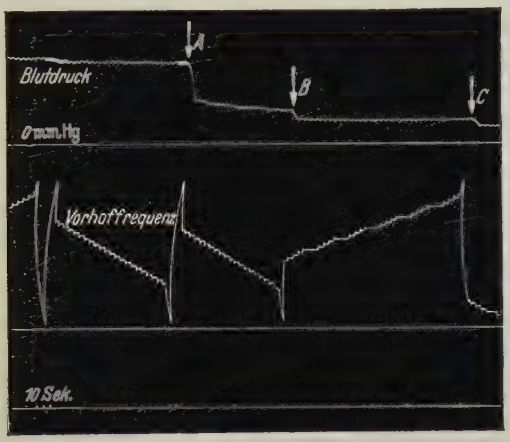


Abb. 1. Katze 2,8 kg Gewicht, Versuchstier mit eröffnetem Thorax und künstlicher Atmung. *A* bis *B* blutdrucksenkende Wirkung einer Acetylcholindauerinfusion von 12 γ/Min., *B* bis *C* von 21 γ/Min.

herab. Unter der Wirkung der Acetylcholindauerinfusion kommt im vorliegenden Falle eine absolute Senkung des Blutdruckes von 28 mm Hg zustande. Diese geringe Intensität der blutdrucksenkenden Wirkung steht mit der niederen Ausgangsblutdruckhöhe in Zusammenhang. Die unterhalb der Blutdruckkurve befindliche Aufzeichnung der Vorhofkontraktionen mittels der elektromagnetischen Registriervorrichtung zeigt jedoch trotz der Dauerblutdrucksenkung keine Überleitungsstörung oder Frequenzveränderung des Herzens gegenüber den Befunden vor dem Beginn der Dauerinfusion. Im gleichen Sinne ist auch der Verlauf der Pulskurve unverändert, was auf eine regelmäßige Ventrikelschlagfolge schließen läßt. Die zueinandergehörigen Anteile von Blutdruckkurve und Abszissenschreibung lassen sich bei allen in dieser Arbeit veröffentlichten Kurven leicht erkennen, da die Umschaltung des Kymographions vom langsamen zum schnellen Gang für beide Kurven gleichzeitig geschieht. Erbrachte nun der Vergleich von Vorhof- und Ventrikelkontraktionen im Abschnitt *A* bis *B* keinen Nachweis für eine Änderung während der Acetyl-

cholindauerinfusion, so zeigt doch eine zusätzliche Steigerung der Blutdrucksenkung infolge der Zufuhr von 21 γ/Min. Acetylcholin um 6 mm Hg im Kurventeil *B* bis *C* eine deutliche Extrasystolie an, bei der auf jede dritte Vorhofkontraktion eine Überleitungsstörung folgt. Die Ventrikeltätigkeit bleibt hiervon aber unberührt, denn die Blutdruckkurve zeigt keinerlei Veränderung, sondern verläuft ununterbrochen in regelmäßigem Rhythmus.

Es sei schon hier erwähnt, daß die mit zunehmender Dosierung von Acetylcholinchlorid stufenweise stärker werdende Blutdrucksenkung am intakten Tier mit normaler Atmung nicht in dieser gleichmäßigen Form möglich ist wie im vorliegenden Falle. Bei erhaltener Tätigkeit des Atemzentrums kommt es meist zu stärkeren gegenregulatorischen Maßnahmen von seiten des tierischen Organismus.

Betrachtet man das Ergebnis dieses Versuches, so kann in Anbetracht der eingangs gemachten Ausführungen festgestellt werden, daß die im Blute und den Geweben durch die Dauerinfusion von 12 γ/Min. Acetylcholin zustande gekommene Konzentration dieser Substanz wohl geeignet war, die Steigerung des Acetylcholinpotentialgefälles an den Wirkungsorten der cholinergischen Gefäßinnervation und damit der Verstärkung des Vagustonus für die Gefäße zu bewerkstelligen, was durch eine Blutdrucksenkung sichtbar zum Ausdruck kam. Betreffs der Vorhof- und Ventrikeltätigkeit aber reichte diese Konzentration noch nicht aus, um eine Überleitungsstörung und Frequenzabnahme hervorzurufen. Anders war dies bei der Dauerinfusion von 21 γ/Min. der Fall. Hier greift jetzt der gesteigerte Vagustonus außer mit einer weiteren Blutdrucksenkung von 6 mm Hg durch eine Überleitungsstörung in die normale Regulierung der Herztätigkeit ein. Die Ergebnisse der in dieser Arbeit durchgeführten Versuche gestatten keinen Schluß daraufhin, welchen Anteil die Konzentrationssteigerung des Acetylcholins im Blute bei der Bildung der blutdrucksenkenden Wirkung und der Überleitungsstörung die zentralen Vaguszellen mit den von ihnen ausgehenden Aktionsstromimpulsen zu den peripheren Erfolgsorganen durch Steigerung des Acetylcholinkonzentrationsgefälles haben, und welcher Anteil einer direkten Steigerung am Wirkungsort der cholinergischen Gefäßnerven zukommt.

Abb. 2 zeigt unter I einen Tierversuch, bei dem bis auf eine künstliche Beatmung der Lungen der Funktionsablauf jeglicher Lebensvorgänge im Organismus ungestört vor sich gehen konnte. Der Verlauf der Blutdruckkurve demonstriert im Kurvenabschnitt *A* bis *B* die blutdrucksenkende Wirkung einer Acetylcholindauerinfusion von 9,0 γ/Min., von *B* bis *C* 14,3 γ/Min. Acetylcholinzufuhr, von *C* bis *D* 30 γ/Min., von *D* bis *E* 41 γ/Min. und nach *E* 53 γ/Min. Im Kurventeil *A* bis *B* hat die Blutdrucksenkung einen absoluten Wert von 20 mm Hg, 46 mm Hg bei *B* bis *C*, 69 mm Hg bei *C* bis *D*, 78 mm Hg bei *D* bis *E* und nach *E* 92 mm Hg. Vor Beginn der Dauerinfusion bestand ein Blutdruck von 120 mm Hg. Erst

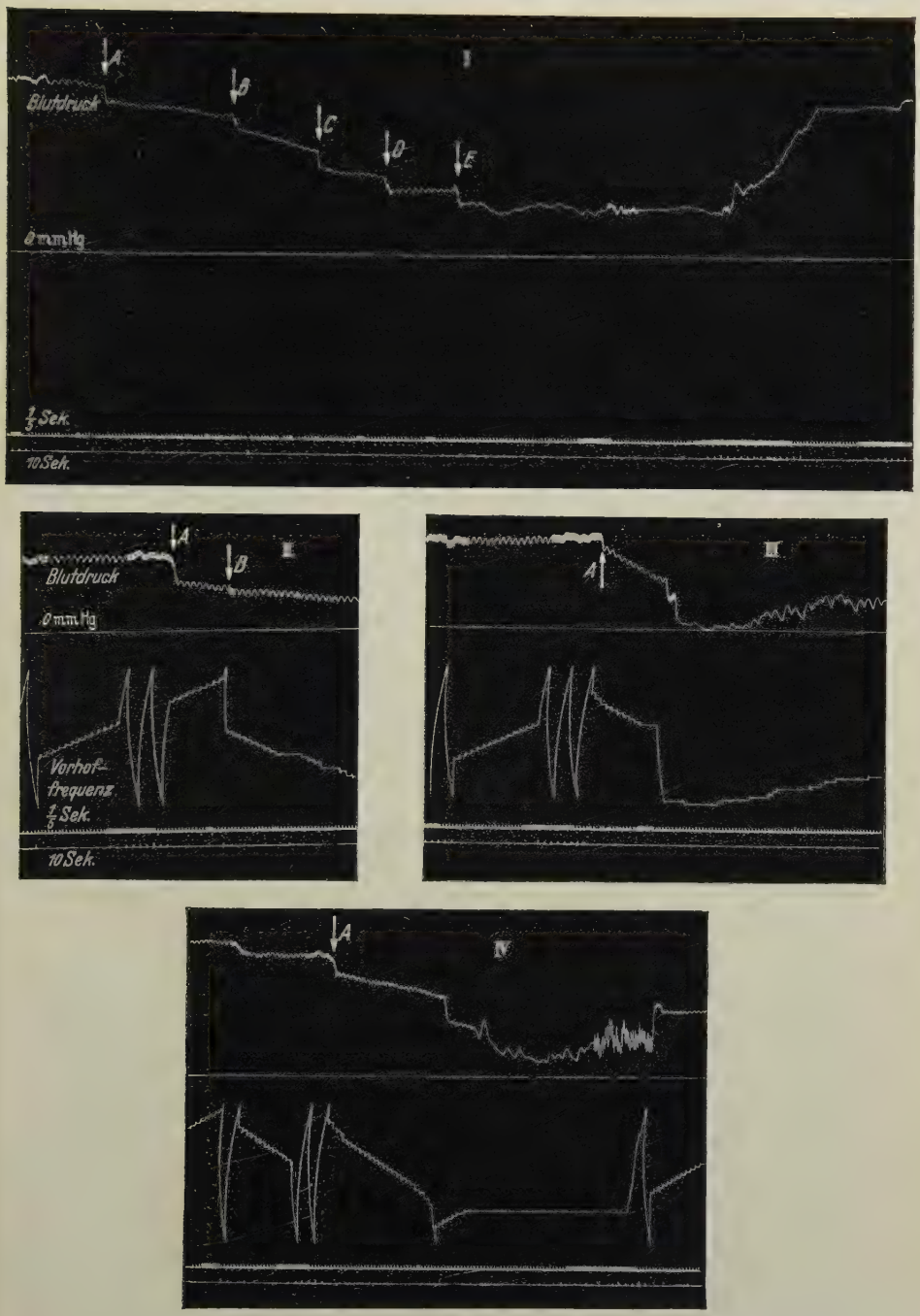


Abb. 2. Katze von 2,0 kg Gewicht. I Versuchstier mit normaler Atmung, II bis IV mit eröffnetem Thorax und künstlicher Atmung. I. *A* bis *B* blutdrucksenkende Wirkung einer Acetylcholinchloriddauerinfusion von 9,0 γ/Min., *B* bis *C* von 14,3 γ/Min., *C* bis *D* von 30,0 γ/Min., *D* bis *E* von 41 γ/Min. und nach *E* von 53 γ/Min. II. *A* bis *B* Wirkung einer Acetylcholindauerinfusion von 10 γ/Min., nach *B* von 19 γ/Min. III. Wirkung einer Acetylcholindauerinfusion von 50 γ/Min. IV. Wirkung einer Acetylcholindauerinfusion von 50 γ/Min.

nach einer Senkung von 87 mm Hg zeigt die Pulskurve eine Störung der Ventrikeltätigkeit an. Es ist anzunehmen, daß schon vorher Überleitungsstörungen vorhanden waren.

Bei diesem Versuch tritt wieder die Rolle, die das Atemzentrum beim völlig intakten Tier spielt, in Erscheinung, denn beim Vorhandensein aller korregulierenden Kräfte würden aktivere gegenregulatorische Erscheinungen auftreten, die einen ungestörten Verlauf der in einzelnen Etappen sich mehr und mehr steigernden Blutdrucksenkung nicht zustande kommen lassen. Es ist am vollständig erhaltenen Ganztier eine so intensive Dauerblutdrucksenkung von 92 mm Hg ohne Gegenregulation nicht möglich, die vor allem in einer deutlichen Abnahme der Herzfrequenz kenntlich werden müßte. In einer früheren Arbeit[9] konnte gezeigt werden, daß bei einem Ausgangsblutdruck von 120 mm Hg über ein Wirkungsmaximum von durchschnittlich 60 mm Hg hinaus die Sicherungsfaktoren des tierischen Organismus keine weitere Steigerung zulassen. Überhaupt liegen beim intakten Tier Schwellwert und Maximum für die Acetylcholindauerwirkung viel näher beieinander, und außerdem verläuft der mit steigender Dosis zusätzlich gebildete Aufbau eines wirksamen Acetylcholinpotentialgefälles nicht in so regelmäßigen Etappen in Abhängigkeit von der zugeführten Menge. Darüber soll in einem anderen Zusammenhange später berichtet werden. Der vorliegende Versuch zeigt jedoch indirekt, welch erheblicher Anteil vom Atemzentrum sonst bei der Abwehr einer allzu starken Acetylcholinwirkung geleistet wird. Eine so intensive Blutdrucksenkung wie bei diesem Versuche ist am intakten Tier nur als Einzelinjektion bei einem höheren Ausgangsniveau des Blutdrucks von 160 bis zu 200 mm Hg bekannt. Wie weit unter der Ausschaltung des Atemzentrums eine Blutdrucksenkung durch Regulierung des cholinergischen Gefäßnervensystems gehen kann, zeigt die absolute Dauerblutdrucksenkung von 78 mm Hg, bei der am Verlaufe der Pulskurve noch keine Veränderung der Herztätigkeit kennbar ist.

Die Kurven von Abb. 2, II, III und IV wurden in Fortführung des Versuches von I nach Thoraxeröffnung angestellt. Das Blutdruckniveau ist infolge der Operation nach 30 Minuten langer Versuchsdauer von 120 mm Hg bei I auf 54 mm Hg von II gesunken. In Abb. 2, II führt die Dauerinfusion von *A* bis *B* von 10 γ/Min. Acetylcholinchlorid zu einer Dauerblutdrucksenkung von 21 mm Hg, die ohne jegliche Überleitungsstörung vor sich geht. Während anschließend nach *B* durch die Steigerung der Infusion auf 19 γ/Min. eine Extrasystolie zustande kommt. Wird dann durch Beschleunigung der Infusionsgeschwindigkeit bei *A* von Abb. 2, III die Menge Acetylcholinchlorid von 19 auf 50 γ/Min. erhöht, so sinkt der Blutdruck von 64 mm Hg bis fast auf 0 herab. Die Pulskurve zeigt eine irreguläre Tätigkeit der Ventrikel an, und der Abszissenschreiber

[9] Zinnitz, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 328 (1938).

registriert einen totalen Herzblock. Nach 20 Minuten langer Pause, während der sich das Tier wieder gut erholt hat, wurde abermals eine Acetylcholindauerinfusion von 50 γ Min. vorgenommen, die Abb. 2, IV darstellt. Das Blutdruckniveau von 95 mm Hg, das eine gute Erholung des Versuchstieres von den Herzblockerscheinungen von 2, III nachweist, sinkt infolge der Infusion um 85 mm Hg auf 10 mm Hg herab. Aber der Abszissenschreiber zeigt diesmal einen Herzstillstand an, obgleich noch periphere Blutdruckschwankungen vorhanden sind.

So zeigt der Versuch von Abb. 2 die einzelnen Stadien der Veränderungen des Blutdrucks und der Herztätigkeit in Abhängigkeit von der Acetylcholinkonzentration im Blut. Und zwar kommt als erstes Anzeichen einer Steigerung der Acetylcholinkonzentration eine Senkung des Blutdrucks zustande. Man kann annehmen, daß sowohl vom Vaguszentrum aus durch Aktionsstromimpulse als auch durch direkten Zustrom vom Blut an den Wirkungsort cholinergischer Gefäßnervenendigungen das Acetylcholinpotentialgefälle gesteigert werden kann. Steigt die Acetylcholinkonzentration infolge größerer Infusionsmengen an, dann entsteht als erste Überleitungsstörung eine Extrasystolie, die nach weiterer Steigerung zur Bradykardie, zum Herzblock und zum Herzstillstand führen kann, wie die einzelnen Etappen des Versuches von Abb. 2 zeigen.

Abb. 3 zeigt die Wirkung der elektrischen Reizung des linken Vagus bei I von 0,1, II von 0,2, III von 0,3, IV von 0,5 und V von 0,8 mA. Das Versuchstier wurde künstlich beatmet. Nach der Thoraxeröffnung stellte sich ein gleichbleibend niedriges Blutdruckplateau von 54 mm Hg ein. Wie die Kurven erkennen lassen, besteht auch für die elektrische Vagusreizung ein Wirkungsbereich, in dessen Grenzen der Reiz nur mit einer Blutdrucksenkung beantwortet wird, so daß man annehmen kann, daß die Unterschiede im Acetylcholinpotentialgefälleniveau bei schwachen Reizen wohl im Bereiche der cholinergischen Gefäßinnervation durch eine Veränderung der Blutdruckhöhe sichtbar werden, die dynamischen Vorgänge am Herzen hierauf jedoch noch nicht ansprechen, was für die energetischen natürlich der Fall sein kann. Während dieser Periode bleibt desgleichen die Herzfrequenz konstant.

Abb. 3, I demonstriert die Reizschwelle. Es kommt, wie aus dem Verlaufe der Blutdruckkurve ersichtlich ist, unter der Reizwirkung von 0,1 mA trotz 3 Minuten langer Reizung nur vorübergehend zu einer leichten Senkung des Blutdrucks von durchschnittlich 6 mm Hg, die sich schnell wieder ausgleicht. Die Herztätigkeit war daran völlig unbeteiligt. Auf allen Kurven von Abb. 3 zeigen die Pfeile über derAbszissenschreibung Beginn und Schluß der Reizung an. Auch eine Reizung von 0,2 mA wirkt nur auf das cholinergische Gefäßnervensystem, wie auf Abb. 2, II zu sehen ist. Es kommt dabei aber eine Dauerblutdrucksenkung von 7 mm Hg zustande. Wird der linke Vagus des Versuchstieres aber mit 0,3 mA gereizt, dann kommt es außer zu einer Dauerblutdrucksenkung von durchschnittlich

7 mm Hg noch zu einer Extrasystolie und Bradykardie, was die Kurven von Abb. 3, III erkennen lassen. Die Pulskurve zeigt auch weiterhin eine gleichmäßige Ventrikeltätigkeit an. Unter der Reizwirkung von 0,5 mA in Abb. 3, IV erreicht die Dauerblutdrucksenkung eine Intensität von

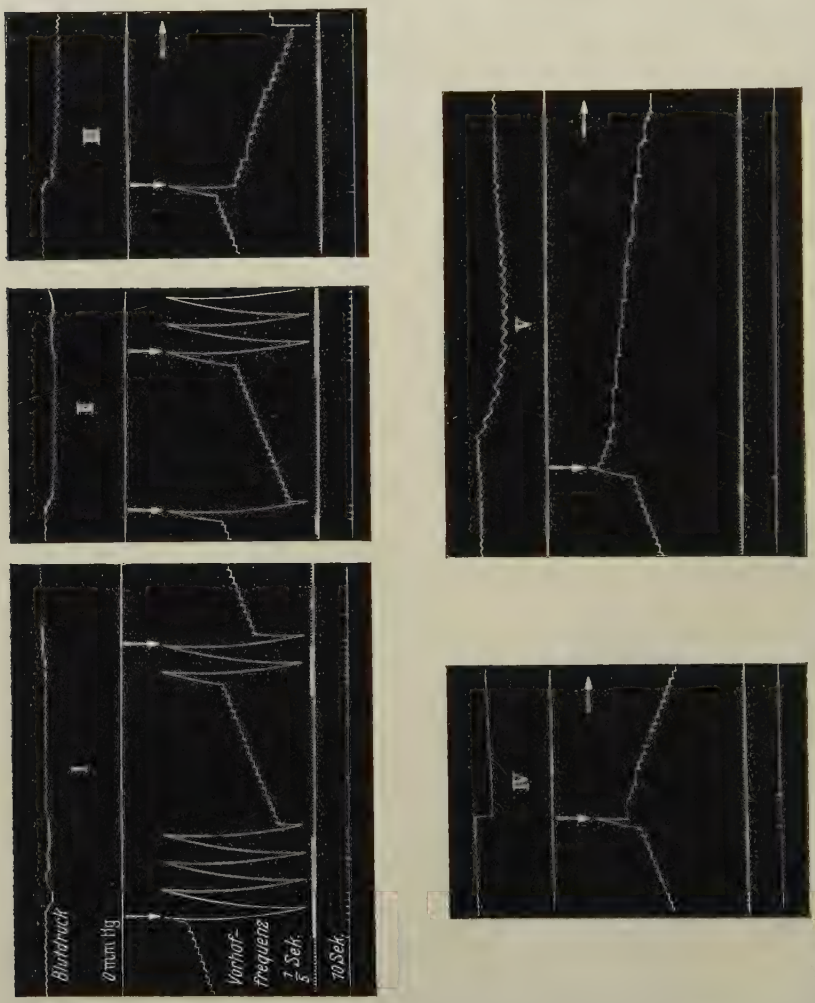


Abb. 3. Katze 3,2 kg Gewicht. I bis V elektrische Reizung des linken Vagus. Reizintensität von I 0,1 mA, von II 0,2 mA, von III 0,3 mA, von IV 0,5 mA und von V 0,8 mA. Die Pfeile zeigen die Dauer der Reizung an.

12 mm Hg. Auch hier besteht eine Extrasystolie. Die Frequenz der Herztätigkeit hat aber im Vergleich zur Reizung mit 0,5 mA zugenommen. Ein Grund hierfür kann darin gesehen werden, daß ja mit den Vagusfasern gleichfalls Vasomotorenfasern gereizt werden. Abb. 3, V zeigt die Wirkung einer Vagusreizung von 0,8 mA. Es kommt zu einer absoluten Blutdrucksenkung von 20 mm Hg, und Pulskurve sowie Vorhofschreibung weisen einen Herzblock nach. Es sei erwähnt, daß alle Reizungen des Ver-

suches von Abb. 3 in der gleichen Reihenfolge, wie sie hier beschrieben worden sind, durchgeführt wurden. An Versuchen mit doppelseitiger Vagusreizung konnte festgestellt werden, daß zur Erreichung der gleichen Effekte wie bei Abb. 3 nur die halben Intensitätsgrade, in unserem Falle 0,05 bis 0,4 mA, erforderlich waren.

Schlußbetrachtung.

Vergleicht man die Wirkungen von Acetylcholindauerinfusion und Vagusreizung auf den Blutdruck, so sind die Unterschiede in der Intensität der Blutdrucksenkung am auffälligsten. Während bei der Acetylcholindauerinfusion mit steigender Dosis die Intensität der blutdrucksenkenden Wirkung mehr und mehr bis zu fast 100 mm Hg zunehmen kann, ohne daß es zu deutlich sichtbaren Veränderungen an der Pulskurve kommt, entsteht unter der Vagusreizung kaum eine Blutdrucksenkung von 20 mm Hg ohne starke Schädigung der Herztätigkeit. Es ist bekannt[4], daß die elektrische Vagusreizung eine Einschränkung des Esterasegehaltes im Blute zur Folge hat, die intensiver ist, als eine Verminderung der Esterasekonzentration des Blutes infolge einer spontanen Blutdrucksenkung oder Acetylcholindauerblutdrucksenkung. In diesem stärkeren Einfluß, den die elektrische Reizung auf die Cholinesterase hat, können die obengenannten Unterschiede begründet sein. Denn das Verschwinden eines größeren Teiles von Esterase aus dem Blute unter der elektrischen Reizung kann als Nachweis dafür angenommen werden, daß am Wirkungsort der cholinergischen Nerven von Herz und Gefäßen mehr Esterase festgehalten wird, wodurch schneller ein höheres, wirksameres Acetylcholinpotentialgefälle aufgebaut werden kann, während bei der Blutdrucksenkung infolge von Acetylcholindauerinfusion die Ansammlung von Esterase am Wirkungsort langsamer vor sich geht. Im letzteren Falle sind es die cerebralen Aktionsstromimpulse, die mit ihren anzunehmenden geringen Intensitätssteigerungen die Anschoppung der Esterase nur langsam vor sich gehen lassen. Dadurch ist es günstiger, wenn beim Nachweis der cholinergischen Gefäßinnervation mit Hilfe der Acetylcholindauerblutdrucksenkung die Esterasekonzentration am Wirkungsort allmählich zunimmt. Aus dem unterschiedlichen Verhalten von Acetylcholinwirkung und elektrischer Reizung kann im Sinne der soeben gemachten Betrachtungen geschlossen werden, daß bei der Steuerung der Acetylcholinhydrolyse die Zu- und Abnahme der Esterasewirkung in Abhängigkeit von der Intensität der elektrischen Vagusreizung oder cerebraler Aktionsstromimpulse vor sich geht. Bei der elektrischen Vagusreizung überspringt der Wechsel vom Esterasekonzentrationsgrad, der nur in einer Wirkung auf die cholinergische Gefäßinnervation zum Ausdruck kommt, bis zu dem Konzentrationsgrad, der die normale Regulation der Herztätigkeit verändert, das Stadium, in dem die Gefäßinnervation eine intensivere Blutdrucksenkung verursacht, zu schnell. Aus diesem Grunde ist die Intensität der blutdrucksenkenden

Wirkung einer elektrischen Vagusreizung so gering. Bei der Acetylcholininfusion aber wird infolge der physiologischen, schwachen Aktionsstromimpulse cerebraler Natur im Vergleich zur künstlichen Reizung die Esterase allmählich mehr und mehr am Wirkungsort der cholinergischen Innervation gespeichert, so daß der Zwischenraum von Gefäß und herzwirksamer Esterasekonzentration nur langsam überbrückt wird. Darum kann der Wirkunsgbereich der cholinergischen Gefäßinnervation bei der Acetylcholindauerinfusion mit fast 100 mg Hg am stärksten erschöpft werden. Als Grund für die Steigerung des Acetylcholinpotentialgefälles unter der Wirkung einer elektrischen Vagusreizung oder Acetylcholininfusion wurde schon früher[4] eine Veränderung der Permeabilität, die durch cerebrale Impulse gesteuert wird, an den Zellgrenzflächen cholinergischer Nervenfasern angesehen.

Zusammenfassung.

1. Es konnte an Hand von Acetylcholindauerinfusionen und elektrischen Vagusreizungen der Nachweis erbracht werden, daß die dynamischen Vorgänge am Herz und an den Gefäßen von der zugeführten Menge Acetylcholin oder dem Grad der Intensität der Reizung abhängig sind.

2. Bei niederen Acetylcholinkonzentrationen im Blute und geringer Reizintensität kommt im lebenden Organismus nur eine Blutdrucksenkung zustande, bei der die Herztätigkeit regelmäßig ohne Überleitungsstörung und Frequenzänderung weiter fortbesteht. Für diese blutdrucksenkende Wirkung wird die cholinergische Gefäßinnervation verantwortlich gemacht.

3. Bei höheren Acetylcholinkonzentrationen im Blute und stärkerer Reizintensität besteht außer der Blutdrucksenkung noch eine Störung der Herztätigkeit, die mit zunehmender Acetylcholindose oder steigender Reizintensität zur Überleitungsstörung in Form einer Extrasystolie, zur Bradykardie, zum Herzblock und Herzstillstand führt.

4. Die Bedeutung des Atemzentrums für die Bildung des Acetylcholinpotentialgefälles bei der cholinergischen Herz- und Gefäßinnervation wird besprochen.

5. Für die Entstehung der pharmakodynamischen Vorgänge bei der chemischen Übertragung der cholinergischen Herz- und Gefäßinnervation wird die Geltung der Straubschen Theorie über den Wirkungsmechanismus von Potentialstoffen anerkannt.

Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Über die Darmwirkung von Pervitin und Benzedrin.

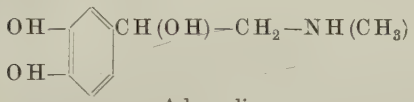
Von

Dr. **Mario Reiser.**

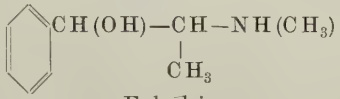
Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. April 1940.)

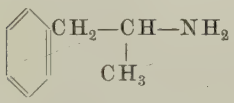
Die pharmakologisch zur Adrenalingruppe gehörenden künstlichen Stoffe Pervitin und Benzedrin unterscheiden sich von den „gewachsenen" Alkaloiden Adrenalin und Ephedrin (siehe die Formeln) durch die völlige



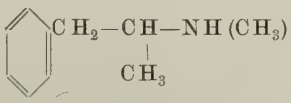
Adrenalin



Ephedrin



Benzedrin



Pervitin

Hydroxyllosigkeit. Während pharmakologisch gesehen vom Adrenalin zum Ephedrin die zwei Brenzcatechinhydroxyle verlorengehen, wodurch die Oxydationsstabilität größer, die Wirksamkeit kleiner wird, ohne prinzipiellen Verlust an der Art der Wirkung, ist Benzedrin und Pervitin unter Verlust des dritten sekundären Hydroxyls etwas ganz Neues, nämlich jener antinarkotische Dopingstoff mit seiner ganz eigenartigen zentralen Wirkung, der nach sehr langer Anlaufzeit in Milligrammdosen eine lang anhaltende Wirkung auslöst[1].

Die sonstigen adrenalin-ephedrinartigen Wirkungen sind, wie Hauschild feststellte, weit zurückgedrängt. Adrenalin, als Sympathicusreizer macht bekanntlich eine Darmperistaltiklähmung. Sie ist spezifisch, denn sie tritt auch bei intravenöser Injektion von 5 γ Adrenalin am Meerschweinchen in der Anordnung nach W. Straub[2] auf. Das Ephedrin hat unter den gleichen Umständen die gleiche Wirkung, aber in tausendmal größeren Dosen. Der Darm in situ braucht bei intravenöser Injektion 5 mg zur kurzdauernden Lähmung von Peristaltik und Tonus.

Über die Darmwirkung von Pervitin und Benzedrin ist Sicheres nicht bekannt. In der gründlichen Untersuchung von Hauschild wird nur

---

[1] Hauschild, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 465 (1939). — [2] Leo, E.: Ebenda **169**, 25 (1933).

von einer Lähmung eines aus anderen Gründen gesteigerten Tonus gesprochen, nicht von Peristaltikbeeinflussung, nicht von Spezifität. Da die Feststellung der Darmwirksamkeit wegen der alten Frage Konstitution und Wirkung von prinzipieller Bedeutung erscheint, habe ich die Darmwirksamkeit dieser Stoffe auf Veranlassung von Prof. W. Straub untersucht.

Grundsätzliches zur Methode (von W. Straub).

Zur Untersuchung der Darmwirksamkeit kommen drei Methoden in Frage:

1. Die bekannte Magnussche, die mit einem Stück ausgeschnittenen Dünndarms in einer Salzlösung arbeitet. Sie ist grundsätzlich eine Methode der Erforschung glatter Muskeltätigkeit, wobei es schließlich gleichgültig ist, ob der glatte Muskel gerade Darm ist, oder Uterus oder Ureter oder sonst etwas. Verzeichnet wird der allen glatten Muskeln zukommende Rhythmus und der Tonus, auf den der Rhythmus sich aufsetzt. Die Methode ist die bequemste. Das Darmstück arbeitet immer irgendwie. Die Methode gibt immer Resultate und ist deshalb sehr imponierend und ebenso beliebt.

2. Die zweite Methode ist die von Paul Trendelenburg[3]. Sie sieht in dem ebenfalls ausgeschnittenen Darmstück aber weniger ein Präparat glatter Muskulatur, sondern ein funktionierendes, d. h. mit seiner Peristaltik arbeitendes Organ. Um zu diesem Zweck ein funktionierendes Organ zu erhalten, wird der ausgeschnittene Darm unter Druck mit physiologischer Salzlösung gefüllt. Er beginnt peristaltisch, d. h. als Organ zu arbeiten, sowie ein bestimmter Füllungsgrad erreicht ist. Die Methode ist mühsam, verlangt kritisches Vorgehen und ist deshalb weniger beliebt und benutzt. Für pharmakologische Fragestellungen hat sie die Besonderheit, daß sie nur die Konzentration der zu prüfenden Substanzen beachtet, und nicht die absolute Menge. Ist die Konzentration, die zur Wirkung eines Mittels, z. B. Morphin, Atropin, nötig ist, eine sehr geringe, so kann man zur Not auch etwas über Spezifität eines Mittels aussagen, aber unter vielen Vorbehalten.

3. Die dritte Methode ist die nach W. Straub[4,5]. Sie stützt sich auf Ergebnisse der Trendelenburgschen Methode als reine Peristaltikmethode, und liefert dazu noch Erkenntnisse der wahren Spezifität von Giften, der Resorption, bei humoraler und nervöser Intaktheit des Präparates, indem sie den Darm in situ beläßt, so daß er frei von Ermüdung und Erschöpfung bleibt. Sie ist ebenfalls eine Organmethode, und gibt auf eine klare Fragestellung sehr klar Antwort. Pharmakologisch hat sie den Wert, daß ihre Resultate ohne weiteres auf menschliche Dimensionen übertragbar sind.

Nach diesen Gesichtspunkten wurde nun die Darmwirkung des Pervitins und Benzedrins untersucht.

Eine Nachprüfung der Hauschildschen Untersuchung am ausgeschnittenen Darm nach Methode 1 wurde unterlassen, nachdem schon Hauschild keine Wirksamkeit am ausgeschnittenen, leeren Darm festgestellt hat.

Dagegen habe ich Prüfungen mit der Methode 3 (W. Straub[4,5]) angestellt. Sie verliefen völlig negativ und wurden mit verschiedenen Dosen

[3] Trendelenburg, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **81**, 55 (1917). — [4] Straub, W., u. Viaud: Ebenda **169**, 1 (1933). — [5] Straub, W., u. E. Leo: Ebenda **169**, 18 (1933).

nach deren intravenöser Injektion geprüft. Dieses völlig negative Resultat ist insofern brauchbar, als man sagen kann, daß am funktionierenden Darm keinerlei spezifische Wirkung vorhanden ist, so daß auch materiell

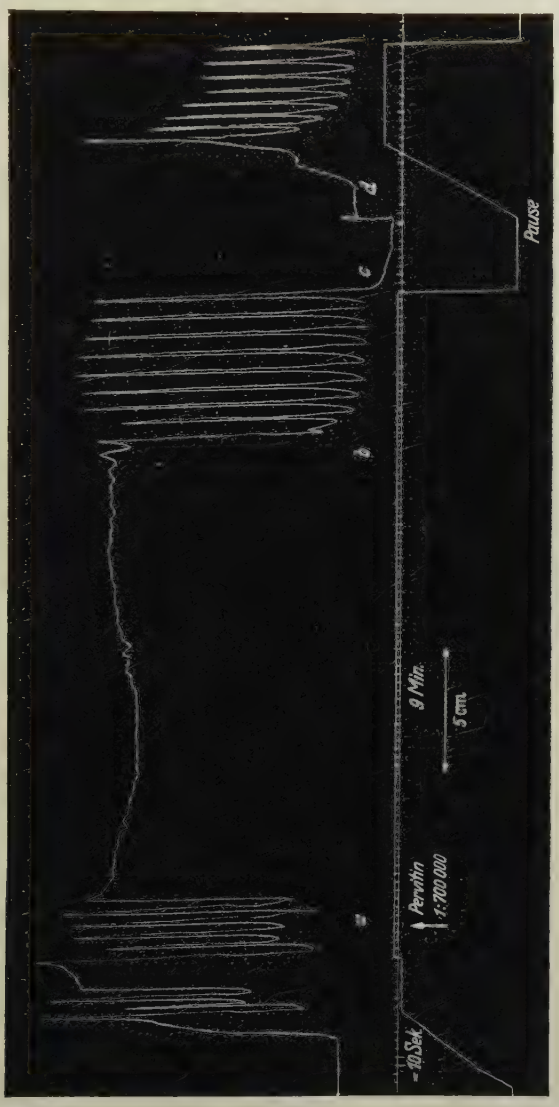


Abb. 1. Pervitinkonzentration 1 : 700000. Obere Kurve: Darmtätigkeit. Untere Kurve: Füllungszustand. Zeit: 10 Sekunden. a) Pervitinzugabe; a—b) Hemmungswirkung des Pervitins; b) Verschwinden der Pervitinwirkung; c) Wegnahme des Füllungsdruckes; d) Füllungsdruck erneut zugelassen.

keine Verzettelung der Dosen entsteht, mit denen man die gewünschte zentrale nervöse Wirkung zu erzielen hofft.

Nach der Methode 2 (P. Trendelenburg) am ausgeschnittenen, funktionierenden Dünndarm ergab sich Besonderes. Wenn man das

Darmstück allmählich unter Druck füllte bis die Peristaltik einsetzte (Fig. 1a), und dann der Außenlösung Pervitin in Konzentration von 1 : 700000 (auf die ganze Außenlösung berechnet) zusetzte, so erfolgte nach 30 Sekunden ein vollständiger Stillstand der Peristaltik. Der Darm dehnte sich nicht mehr aus und blieb mehr als 5 Minuten bewegungslos, obwohl dauernd der ursprüngliche Füllungsdruck auf ihm lastete. Plötzlich, nach einer ganz kleinen Vorbereitung, fing er, dem Füllungsdruck entsprechend, mit seiner normalen Tätigkeit wieder an (Abb. 1b), die er

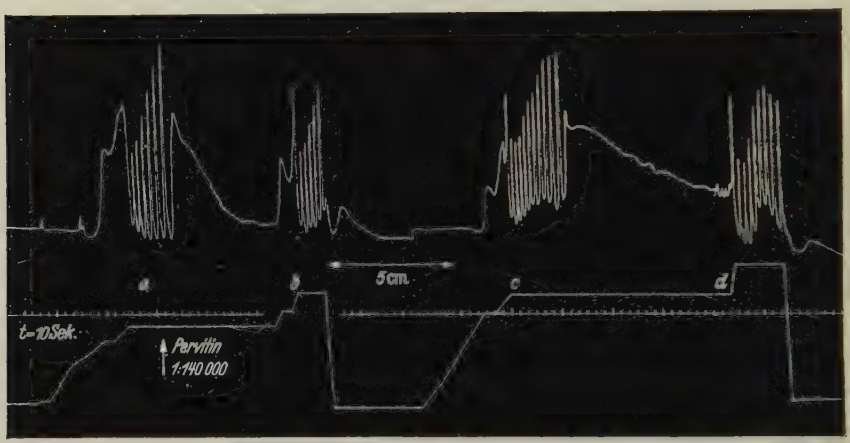


Abb. 2. Pervitinkonzentration 1 : 140000. a) Eintritt der Pervitinwirkung; b) Effekt der Druckerhöhung und Drucksenkung; c) wieder Druck zugelassen; c—d) abermals Pervitinwirkung; d) Druckerhöhung.

prompt wieder einstellte (Abb. 1c), als der Füllungsdruck weggenommen wurde.

Das Bild war das gleiche, wenn der Darm in einer Pervitinlösung von 1 : 140000 gehalten wurde (Fig. 2a). Es konnte hier gezeigt werden, daß im Zustande der Funktionslosigkeit eine Erhöhung des Füllungsdruckes zu einer neuen Peristaltik führte (Abb. 2b), die sofort verschwand, wenn der Füllungsdruck abgesetzt wurde. Die Erscheinung konnte am selben System ein zweites Mal und öfter wiederholt werden (Abb. 2c).

Der gleiche Effekt zeigte sich grundsätzlich bei einer Benzedrinlösung von 1 : 700000 (Abb. 3).

Die beiden Substanzen haben also eine deutliche Wirkung auf den ausgeschnittenen Dünndarm, und zwar die Wirkung einer plötzlich auftretenden Hemmung der bestehenden Peristaltik.

Auffallend ist, daß eine Art von Inkubation der Wirkung besteht. Nach Zusatz der Substanzen erfolgt die Wirkung nicht sofort, wie bei Morphin oder Adrenalin, sondern es dauert eine gewisse Zeit, die anscheinend

von der Konzentration der Stoffe in der Außenlösung abhängt, und dieser irgendwie umgekehrt proportional ist. So beginnt der kritische Effekt:

bei Pervitin	1 : 140000	nach etwa	20	Sekunden
„ „	1 : 700000	„ „	40	„
„ Benzedrin	1 : 700000	„ „	130	„

Es scheint, als ob ein Konzentrationsausgleich von außen nach innen vor sich geht und daß das Organ, auf das die Stoffe wirken können, erst nach

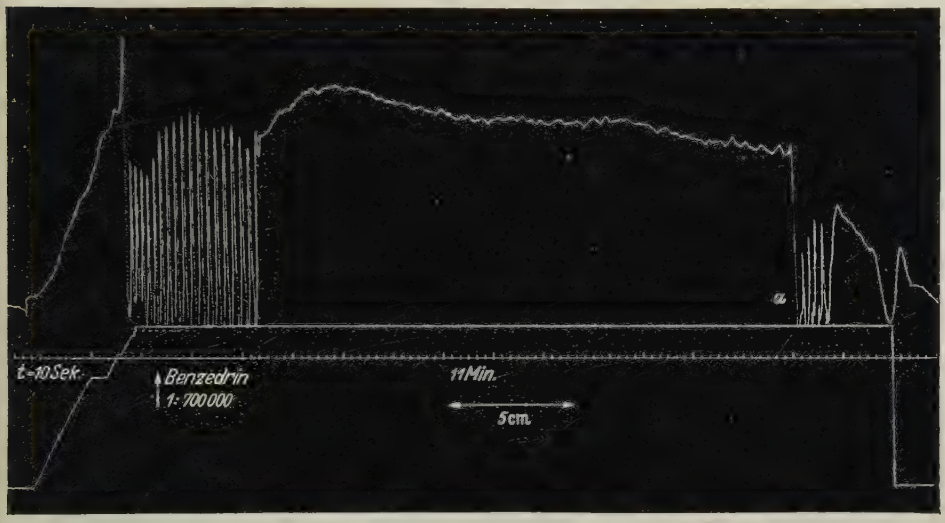


Abb. 3. Wirkung von Benzedrin, Konzentration 1 : 700000. a) Spontanes Aufhören der Benzedrinwirkung.

einer gewissen Zeit von der aktiven Konzentration erreicht wird. Das Organ könnte das Zentralnervensystem des Darms sein, das die Peristaltik reguliert, es könnte der Auerbachsche Plexus sein.

Bemerkenswert ist auch das plötzliche Ende der Wirkung der Stoffe. Der Stillstand hält im allgemeinen 6—9 Minuten an. Danach beginnt plötzlich und ohne nennenswerte Vorboten die alte, dem ja immer noch lastenden Füllungsdruck entsprechende Peristaltik von neuem (siehe Abb. 1b und 3). Der Darm ist dann wieder normal. Das steht schon darmphysiologisch im Gegensatz zu dem Verhalten des normalen Darms in der Trendelenburgschen Anordnung. In dieser humoral isolierten, von der Zufuhr der Ernährung abgeschnittenen Anordnung ermüdet der Darm bei lastendem Druck sehr rasch. Erst nach Entlastung kann er nach Erholung und Wiederbelastung zu neuer Peristaltik gebracht werden. Der Pervitin/Benzedrin-Darm dagegen kommt nach Verschwinden der Wirkung der Stoffe sofort wieder zur Tätigkeit, die viel länger fortgeht als es beim normalen Darm der Fall ist.

Wenn man die Frage aufwirft, ob die Stoffe noch eine adrenalinartige Wirkung haben, die man nach ihrer chemischen Konstitution erwarten dürfte, so muß man sagen: Eine spezifische Wirkung im Sinne der elektiven Verteilung an eine adrenalinempfindliche Stelle im Dünndarm ist bestimmt nicht vorhanden. Aber auch die zwangsweise auftretende Wirkung hat nichts Adrenalinartiges an sich. Die Kurven der Darmtätigkeit sinken nicht etwa auf die Fußpunkte herunter. Es findet kein maximaler Verlust an Tonus statt. Der Stillstand der Peristaltik findet unvermittelt und plötzlich auf dem Gipfel oder zwischen Gipfel- und Fußpunkten statt (siehe Abb. 1 und 3), vielleicht sogar eher mit einer Zunahme des Tonus (Abb. 3). Nicht adrenalinartig ist auch der Wiederbeginn der Peristaltik bei fortdauernder Anwesenheit der Stoffe (Abb. 1b). Bei Adrenalin erfolgt dieser Wiederbeginn allmählich und fällt wohl mit der Zerstörung des Adrenalins zusammen. Aber so etwas kommt der chemischen Natur der Substanzen nach hier nicht in Frage.

Die Substanzen bewirken bei ihrer zentralen und therapeutischen Wirkung phänomenologisch eine Art von Reizung, die sich als Überfunktion des Großhirns äußert. Auch die Wirkung am Darm könnte eine analoge Deutung erfahren, wenn man annimmt, daß sie eine vorübergehende Hemmung der so komplizierten Peristaltik hervorruft, eine Hemmung und nicht etwa eine Lähmung.

Ergebnisse.

1. Pervitin und Benzedrin haben keine spezifische Darmwirkung.
2. Sie bewirken hingegen am Dünndarmpräparat in der Anordnung nach P. Trendelenburg schon in ganz schwachen Konzentrationen eine von selbst vorübergehende Hemmung der Peristaltik.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Lausanne.

Die Wirkung kreislaufaktiver Pharmaka auf die Speicherfunktion der Milz.

Von

R. Domenjoz und A. Fleisch.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. Mai 1940.)

In Fortführung früherer Arbeiten[1, 2] über den Effekt kreislaufaktiver Pharmaka auf die Venen des Splanchnicusgebietes haben wir uns mit der Untersuchung ihrer Wirkung auf die Milz befaßt.

Wenn man auch quantitativ dem Venensystem die führende Rolle unter den Blutspeichern einräumen muß, so bleibt doch die Milz das schulmäßige Beispiel eines Depotorgans, eben weil es sich hier um ein morphologisch abgegrenztes Organ handelt, das durch seine Struktur zu einer typischen Speicherfunktion prädestiniert ist. Wenn man jedoch die Milz als das maßgebende Reservoir für „rasche" Ausschüttung bezeichnet, so wird man damit den Tatsachen nicht gerecht. Andere Organe, die nur in der Nebenrolle eine Speicherfunktion ausüben, können eine rasche Ausschüttung und eine momentane Vergrößerung des Minutenvolumens schneller und vor allem ausgiebiger bewerkstelligen. Wir denken hierbei an das Venensystem und besonders an das Geäst der herznahen, großen Venen, die durch eine einfache Engerstellung das Blutangebot an das rechte Herz ganz plötzlich vermehren und damit das Minutenvolumen vergrößern können.

Neben der quantitativen muß auch die qualitative Leistung der verschiedenen Speicherorgane berücksichtigt werden. Bei dem Beispiel der Milz handelt es sich um ein Reservoir, das abseits vom allgemeinen Kreislauf liegt, und in welchem das Blut sozusagen in einer Reserveform, und zwar eingedickt, gespeichert wird, wie dies durch die Hämatokritwerte des Pulpablutes verdeutlicht wird. Auf der anderen Seite stehen Organe, die durch ihr enormes Fassungsvermögen wechselnde Blutmengen leicht aufnehmen, und, durch eine relativ verlangsamte Strömung im breiten Bett, dem allgemeinen Kreislauf temporär entziehen können. Die Zusammensetzung des hier zurückgehaltenen Blutes erleidet dabei, grob gesprochen, keine Veränderungen. Die Speicherfunktion von Blut zum Ausgleich hämodynamischer Faktoren ist Organen mit großer Kapazität

[1] Fleisch, A., u. W. Küchler: Arch. internat. Pharmacodynam. **62**, 357 (1939). — [2] Domenjoz, R., u. A. Fleisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 645 (1939).

überbunden: dem Venensystem (Fleisch[3,4]), dem venösen, subpapillären Plexus der Haut (Wollheim) und ganz allgemein den Gefäßen des Splanchnicusgebietes. Die Milz hingegen ist unseres Erachtens in erster Linie ein Erythrocytendepot, ein Hämoglobinspeicher, wozu sie ihrem Volumen nach und wegen der darin existierenden Bluteindickung viel geeigneter erscheint als zum Ausgleich verlorener Blutmengen.

Bei der Deutung des regulierenden Zusammenspiels der Kreislauffaktoren sollte, was bis heute außer acht gelassen wurde, die funktionelle Verschiedenheit der Blutspeicher berücksichtigt werden. Es ist denkbar, daß dieser funktionellen Verschiedenheit auch Unterschiede in der Steuerung dieser Organe entsprechen, die z. B. in einer verschiedenen Empfindlichkeit gegenüber dem physiologischen, humoralen Reizüberträger zum Ausdruck gelangen könnten. Die sowohl nervös-reflektorische als auch humorale Steuerung des Blutreservoirs ist prinzipiell hinreichend bekannt, dagegen ist es noch nicht klar, in welcher Proportion die einzelnen Organe im Falle eines Entspeicherungsvorganges eingesetzt werden. Die Kenntnis der Menge des von jedem Organ auf eine bestimmte Dosis Adrenalin freigegebenen Blutes wäre ganz besonders wichtig. Es ist theoretisch denkbar, daß nicht alle Blutdepots in gleichem Ausmaß an einer allgemeinen Entspeicherung teilnehmen, sondern daß ihr Schwellenwert, d. h. ihre Empfindlichkeit für Adrenalin verschieden ist und daß der Organismus auf diese Weise das Maß und die Art der Autotransfusion, ob Flüssigkeit oder Hämoglobin, dosiert. Desgleichen ist es möglich, daß die einzelnen kreislaufaktiven Pharmaka auf die verschiedenen Blutspeicher, wenn nicht qualitativ verschieden, so doch quantitativ eine differenzierte Wirkung ausüben.

Es war unsere Absicht, für die einzelnen Gefäßtonika den Schwellenwert festzustellen, bei dem die Milz in Funktion tritt. Es ist klar, daß bei einer derartigen Untersuchung der Reaktion der Milz gegenüber vasoaktiven Stoffen nur eine möglichst physiologische Methode in Frage kommen kann, die einerseits klaren Aufschluß gibt über die Größenveränderungen des Organs und andererseits anwendbar ist, ohne daß das Organ oder sein Gefäßnervenapparat lädiert werden. Die hauptsächlich zur Untersuchung der Funktion der Milz angewandten Methoden sind:

1. direkte Beobachtung am eröffneten Tier,
2. röntgenographische Kontrolle der Größenveränderungen, nach Anheften von Metallklammern an den Milzrand,
3. Perfusion des isolierten Organs,
4. Plethysmographie der in situ befindlichen Milz,
5. Messung von Zu- und Abfluß mit Hilfe der Reinschen Thermostromuhr,

---

[3] Fleisch, A.: Pflügers Arch. **225**, 26. — [4] Fleisch, A.: Ebenda **228**, 351.

6. fortlaufende Wägung der an den Hals eines anderen Tieres verpflanzten Milz.

Wir entschieden uns für die Plethysmographie in einer eigens für unsere Zwecke konstruierten Kapsel, weil diese Methode zwischen den beiden Tendenzen der präzisen Registrierung von Volumenveränderungen und der möglichsten Schonung des Organs das Optimum darstellt.

Leider ist an der Milz eine serienmäßige Untersuchung vasoaktiver Stoffe äußerst schwierig. Es ist klar, daß z. B. durch mehrmalige Injektion pressorischer Substanzen Bedingungen geschaffen werden, die die normale Speicherfunktion der Milz verändern und Regulationsvorgänge auslösen, die einer Entleerung des Organs entgegenwirken (O. Mertens[5]). Andererseits ist der Entspeicherungsvorgang, der unter normalen Verhältnissen ein durchaus reversibles Geschehen ist, im Tierexperiment nur bedingt reversibel. Wenn auch nach jeder künstlich ausgelösten Kontraktion das Organ wieder Blut aufnimmt, verliert die Milz im Verlaufe des Versuches doch ihr ganzes Blut und kommt zum Schluß in völlig geschrumpftem Zustande aus dem Plethysmographen heraus.

Technik.

Als Versuchstiere dienten Hunde im Gewicht von 7—40 kg in Morphin-Numalnarkose. Der Blutdruck wurde aus der Art. carotis mit optischem Manometer registriert. Um Störungen durch große Atmung auszuschalten, wurden die Tiere durch eine Trachealkanüle künstlich beatmet.

Die Injektionen wurden in der Regel in den allgemeinen Kreislauf gemacht, nämlich in die V. jugularis. Daneben unternahmen wir erstmalig den Versuch, eine Kanüle in einen hochgelegenen Seitenast der Art. lienalis (Ramus pancreaticus, art. gastroepiploica sin.) einzubinden, um so die wirksamen Konzentrationen direkt an das Organ heranzubringen; dies, damit der Wirkstoff in erster Linie nur auf die Milz und nicht gleichzeitig auch auf andere Speicherorgane wirkt. Allerdings stellt die Präparation der Art. lienalis, bzw. einer ihrer Seitenäste eine schwierige und oft verletzende Operation dar, bei der das Geflecht der Milznerven lädiert werden kann. Die Verwendung eines zur Milz selbst ziehenden Seitenastes der Art. lienalis, ist unzweckmäßig, da hierdurch bedeutende Teile der Milz der Durchblutung entzogen werden. Das Aufsuchen eines höhergelegenen Seitenastes der Milzarterie ist besonders bei älteren Tieren mit starrem Brustkorb schwierig, da man zum Arbeiten in der Tiefe der Leibeshöhle gezwungen ist. Leichter gelingt das Unternehmen bei jungen Tieren und breitbrüstigen Rassen, besonders bei leeren Eingeweiden und nach Anlegen einer Magendrainage.

Bei der Operation wurde folgendermaßen verfahren: Bauchschnitt in der Mittellinie, Tenotomie der beiden Mm. recti abdomini, Querschnitt

[5] Mertens, O.: Nachr. Ges. Wiss., Göttingen, Biologie **1**, 261 (1935).

der linken Bauchdecke, der den Rippenbogen ungefähr in der Axillarlinie trifft, so daß die Milz leicht aus dem Abdomen herausgehoben werden kann. Entleeren des Magens durch Anlegen eines Drains; dies ist eine wichtige Operation, da ein ballonierter Magen das Arbeiten erschwert oder unmöglich macht. Die Milz wird sofort beim Luxieren aus der Bauchhöhle mit Kompressen bedeckt, die mit körperwarmer Ringerlösung getränkt sind. Der in der Regel nur ein kurzes Gekröse besitzende craniale Milzpol wird durch Ligaturen freigemacht.

Beim Präparieren des Seitenastes der Art. lienalis muß auf schonendes Arbeiten besonders geachtet werden. Jedes Zerren oder Reißen im Gebiet des Milzhilus wird von der Milz durch eine allgemeine oder partielle Kontraktion beantwortet. Man geht zwischen den Blättern der Bursa omentalis ein und verfolgt die Milzarterien bis zu ihrer Vereinigung. Dann wird herzwärts von dieser Stelle ein weiterer Seitenast, nämlich der Ramus pancreaticus oder die Art. gastroepiploica sin., aufgesucht und präpariert. Das Einführen der Kanüle ist schwierig, da der betreffende Ast in der Tiefe liegt und meist ziemlich dünn ist. Bei der ganzen Operation wird der Magen nach oben geklappt, wobei darauf zu achten ist, daß die zahlreichen Anastomosen zwischen dem milzeigenen Gekröse und den Gefäßen der großen Kurvatur geschont werden, damit dem Präparat die normalen Abflußverhältnisse erhalten bleiben. Die zur Injektion geeignete Arterie wird durch Eingehen zwischen den Blättern der Bursa omentalis aufgesucht, die Kanüle selbst wird jedoch mit Vorteil unter Durchbrechen des unteren Blattes der Bursa eingeführt.

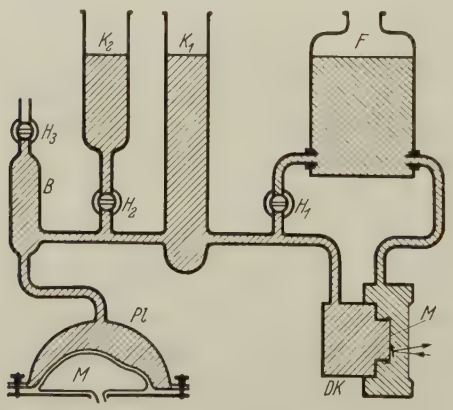


Abb. 1.

Nach Einführen der Kanüle wird die Milz in einem eigens konstruierten, auf Körpertemperatur vorgewärmten Plethysmographen eingeschlossen. Wegen seines Gewichtes mußte dieser Apparat über dem Tier aufgehängt werden.

Die plethysmographische Registrierung der Volumenschwankungen geschah mit Hilfe einer Differentialkapsel. Über die Apparatur gibt Abb. 1 Aufschluß. Die Flasche F, die Differentialkapsel DK, die beiden Kompensatoren K_1 und K_2, der Blasenfänger B, sowie der Plethysmograph Pl sind während des Versuches mit Wasser gefüllt. Die Hähne H_1 und H_3 sind geschlossen. Bei Kontraktion der Milz M wird Wasser durch die Schlauchleitung angesaugt aus der Differentialkapsel DK, wodurch die

Membran M nach links ausgebuchtet wird. Um die Ausschlagsgröße des auf der Membran M sitzenden Spiegels während des Experimentes zu variieren, sind die Kompensationsgefäße K_1 und K_2 vorhanden. Da nämlich bei Milzkontraktion auch aus diesen Flüssigkeit in den Plethysmographen einströmen kann, so werden die Ausschläge der Membran M kleiner. Je nach der Empfindlichkeit des Organs wird das Kompensationssystem durch Einschalten des Gefäßes K_2 vergrößert. Wenn die Milz im Verlaufe der langen Versuchsdauer sich immer weiter kontrahiert, so wird der Hahn H_1 geöffnet, um die Membran wiederum in die Ruhelage zurückzubringen. Die in einigen Versuchen durchgeführte Eichung der Apparatur geschah durch Injektion einer bestimmten Wassermenge direkt in die Kapsel des Plethysmographen, unter Messung des dabei erfolgenden Ausschlages am Photokymographion.

Die zu untersuchenden Substanzen wurden in warmer Ringerlösung gelöst eingespritzt.

Resultate.

Die größte Sensibilität der Milz wird regelmäßig zu Beginn der Versuche beobachtet. Mit zunehmender Versuchsdauer werden die Reaktionen schwächer und es müssen nach und nach stärkere Dosen verwendet werden. Die wiederholten Injektionen milzkontrahierender Substanzen erzeugen einen sukzessive zunehmenden Kontraktionszustand, indem die einzelnen Kontraktionen nicht ganz reversibel sind. Bei serienmäßiger Injektion kann deshalb den Resultaten in quantitativer Beziehung kein absoluter Wert zukommen. Eine Ausnahme hiervon bilden die ersten Reaktionen eines Tieres. In den meisten Fällen haben wir uns deshalb nur mit der Feststellung der wirksamen Grenzdosen befaßt, ohne dem quantitativen Ausmaß der plethysmographischen Reaktionen einen absoluten Wert zuzumessen.

Zunächst ist festzustellen, daß die lokale Applikation des Wirkstoffes in die Milzarterie sehr viel aktiver ist als die intravenöse Injektion in die V. jugularis. Der Vergleich ergibt, daß bei direkter Injektion in die Art. lienalis die Konzentrationen etwa $^1/_{100}$ der bei intravenöser Applikation nötigen Dosis betragen. Bei lokaler Wirkung waren die kleinst wirksamen Konzentrationen für Adrenalin $1 : 10^9$ und für Sympatol $1 : 10^8$—$1 : 10^{10}$. Abb. 2 gibt ein Beispiel der lokalen Applikation von Sympatol, wobei die Konzentration von $1 : 10^8$ eine sehr intensive, über den Kurvenrand hinausschießende Milzkontraktion erzeugt. Wir fügen bei, daß die angegebene Konzentration gültig ist für die eingespritzte Lösung, die sich mit dem arteriellen Blut noch weiter stark verdünnt. Wie Abb. 2 zeigt, ist diese Milzkontraktion begleitet von einer annähernd gleichzeitig entstehenden Blutdrucksteigerung (Kurve *Pa*).

Wegen der schwierigen Technik der lokalen Applikation wurden die meisten Injektionen in die V. jugularis gemacht. Dabei ist zu betonen,

daß wir prinzipiell keine Unterschiede gesehen haben zwischen der lokalen Applikation und der intravenösen.

Bei Durchsicht sämtlicher Resultate ist auffällig, daß das Verhalten des Blutdrucks durchaus nicht parallel der Milzreaktion verläuft. In einem Teil der Versuche löst die Milzkontraktion Blutdrucksteigerung aus, wie dies Abb. 2 zeigt. Es ist in diesem Falle nicht zweifelhaft, daß die Milzkontraktion die Blutdrucksteigerung erzeugt, denn der Wirkstoff wurde lokal in die Milz appliziert, so daß seine Konzentration im Körperblut zu klein sein dürfte, um noch auf andere Speicherorgane zu wirken. Dieser Schluß ist um so mehr gerechtfertigt, als wir bei so kleinen, in die Vene injizierten Konzentrationen niemals eine Blutdruckwirkung beobachtet

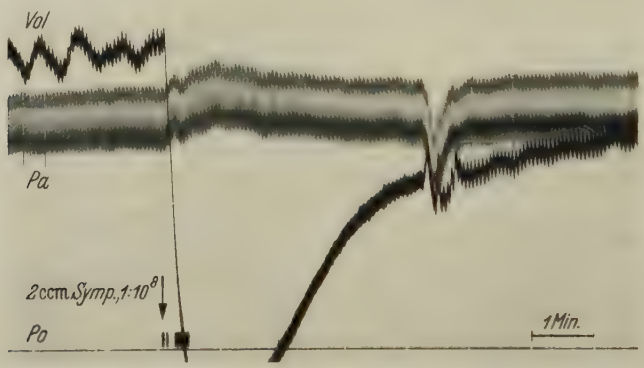


Abb. 2. Plethysmographische Registrierung des Milzvolumens am Hund bei Injektion von 2 ccm Sympatol, $1:10^8$ in einen Seitenast der Art. lienalis. Vol = Milzvolumen, wobei Ausschlag der Kurve nach unten Milzkontraktion bedeutet; Pa = Blutdruck, 1 cm Ausschlag = 40 mm Hg. P_0 = Nullinie des Blutdrucks.

haben. Kontraktion der Milz allein kann somit zu einer deutlichen Blutdrucksteigerung führen. Bei anderen Versuchen hingegen sieht man bei intravenöser Applikation eine sehr deutliche Milzkontraktion, wobei aber der Blutdruck gänzlich unbeeinflußt bleibt, wie in Abb. 3 wiedergegeben ist. Dieses differente Verhalten von Blutdruck und Milz ist, zum Teil wenigstens, ein Charakteristikum des Wirkstoffes. Es sind hauptsächlich Adrenalin, Sympatol und Suprifen, und zum Teil auch Veritol, welche Milzkontraktionen erzeugen ohne gleichzeitigen Blutdruckanstieg. Alle anderen Körper erzeugen gleichzeitig mit der Milzkontraktion auch Blutdrucksteigerung. Wir folgern daraus, daß die genannte Gruppe, nämlich Adrenalin, Sympatol und Suprifen und zum Teil auch Veritol stärker auf die Milz wirken als auf andere Speicherorgane, währenddem bei allen anderen Wirkstoffen diese Prädilektion für die Milz weniger vorhanden ist.

Wenn gegen Ende des Versuches die Milz stark kontrahiert ist, so reagiert sie nicht mehr auf die Injektion vasopressorischer Stoffe, hingegen erhält man trotzdem noch regelmäßige Blutdrucksteigerungen. Ein weiteres Argument gegen die Bedeutung der Milz als Blutspeicher liefern die durch

Histamin erhaltenen Resultate. Histamin bewirkt nämlich, wie schon andere Autoren (Barcroft, Gollwitzer-Meyer und Geelhaar) gefunden haben, regelmäßige Milzkontraktion, während der Blutdruck gleichzeitig sinkt. Die Entleerung des Milzspeichers wird also stark überkompensiert durch Vasodilatation in anderen Organen.

In Tabelle 1 sind sämtliche 10 untersuchten Substanzen aufgeführt mit Angabe der Grenzkonzentrationen, von denen ab Wirkungen zu beobachten waren. Auffällig ist vor allem, daß sämtliche 10 Stoffe immer nur Milzkontraktion bewirken und niemals Dilatation. Obwohl, abgesehen vom

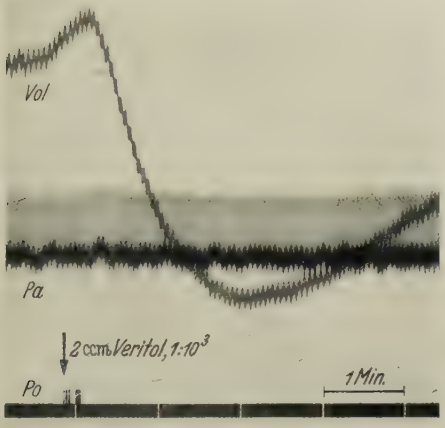


Abb. 3. Plethysmographische Registrierung des Milzvolumens am Hunde bei Injektion von 2 ccm Veritol, 1 : 10^3 in die V. jugularis. Erklärung wie bei Abb. 2. (1 cm Ausschlag der Blutdruckkurve = 30 mm Hg.)

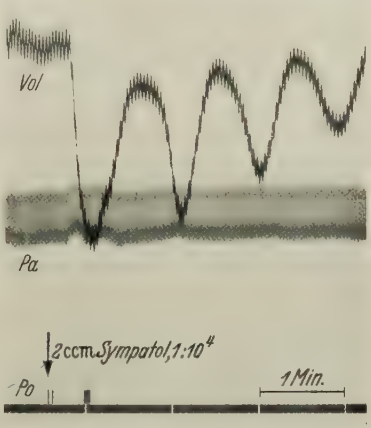


Abb. 4. Plethysmographische Registrierung der rhythmischen Volumenschwankungen der Hundemilz bei Injektion von 2 ccm Sympatol, 1 : 10^4 in die V. jugularis. Erklärung wie bei Abb. 2. (1 cm Ausschlag der Blutdruckkurve = 33 mm Hg.)

Tabelle 1.

	Milzkontraktion bei Injektion in die		Blutdruck-wirkung	Eingeweide-venen, lokale Wirkung
	V. jugularis	Art. lienalis		
Adrenalin ab	10^{-7}	10^{-9}	10^{-5}—10^{-6}	10^{-7}—10^{-8}
l-Corbasil ab	10^{-6}		10^{-6}	10^{-7}—10^{-8}
Sympatol ab	10^{-5}—10^{-6}	10^{-8}—10^{-10}	10^{-4}—10^{-5}	10^{-7}—10^{-8}
Suprifen ab	10^{-5}	10^{-6} (?)	10^{-4}	10^{-6}
Veritol ab	10^{-4}—10^{-5}		10^{-4}	10^{-7}
Ciba 2020 ab	10^{-4}—10^{-5}	10^{-7} (?)	10^{-4}—10^{-5}	10^{-7}
Tyramin ab	10^{-4}		10^{-4}	10^{-6}—10^{-7}
Pervitin ab	10^{-3}		10^{-3}—10^{-4}	10^{-6}—10^{-7}
l-Ephedrin ab	10^{-3}		10^{-3}	10^{-6}
Histamin ab	10^{-4}		10^{-5}—10^{-6}	10^{-6}—10^{-9}

Histamin, alles vasopressorische Substanzen sind, wäre doch zu erwarten gewesen, daß infolge der gleichzeitigen Blutdrucksteigerung gelegentlich als Reflexwirkung des erhöhten Druckes, die lokale Wirkung durch eine reflektorische Milzerweiterung überdeckt worden wäre. In Tabelle 1 sind

die Substanzen in der Reihenfolge ihrer ungefähren Wirkungsstärke aufgeführt. Dabei muß aber betont werden, daß infolge der während des Versuches sukzessive abnehmenden Sensibilität der Milz, die angeführten Zahlen nur bedingte Gültigkeit beanspruchen können. In der letzten Kolonne der Tabelle sind die früher von uns (R. Domenjoz und A. Fleisch) gefundenen Empfindlichkeiten der Eingeweidevenen angegeben. Beim Vergleich der für die Eingeweidevenen notwendigen Konzentrationen ergibt sich ungefähr dieselbe Reihenfolge wie für die Wirksamkeit auf die Milz, mit Ausnahme von Suprifen. Sowohl für die Eingeweidevenen als auch für die Milz sind Adrenalin, l-Corbasil und Sympatol die wirksamsten Körper.

Die von anderen Autoren beschriebenen rhythmischen Volumenschwankungen der Milz wurden auch ungefähr in der Hälfte unserer Versuche beobachtet. Bei Milzkontraktionen, die durch lokale Injektion in die Milzarterie ausgelöst worden waren, haben wir diese Wellen, mit einer einzigen Ausnahme nie beobachtet. Sie waren jedoch bei intrajugularer Injektion der Wirkstoffe fast regelmäßig vorhanden, besonders wenn durch die Injektion Blutdruckerhöhungen hervorgerufen worden waren. In einigen Versuchen war es so, daß minimale Dosen leichte Schwankungen, mittlere Dosen deutlichere Pendelbewegungen und erst höhere Dosen eine wirkliche Kontraktion der Milz hervorriefen. Abb. 4 gibt ein Beispiel solcher Pendelbewegungen, die in diesem Falle durch Sympatol ausgelöst wurden. Wird die Sympatoldosis größer gewählt, so sind die Volumenschwankungen viel geringer, dafür tritt dann aber eine tonische Kontraktion der Milz auf.

Zusammenfassung.

An Hunden wird das Milzvolumen plethysmographisch gemessen und der Einfluß von 10 gefäßwirksamen Pharmaka untersucht. Sämtliche Stoffe bewirken Milzkontraktion, wobei Adrenalin, l-Corbasil, Sympatol und zum Teil noch Veritol als die wirksamsten befunden wurden. Diese Gruppe von Wirkstoffen ist speziell wirksam auf die Milz, indem sie bei schwachen Dosen die Milz zur Kontraktion bringen, ohne den Blutdruck zu erhöhen. Bei den anderen Substanzen (Suprifen, Ciba 2020, Tyramin, Pervitin, l-Ephedrin) geht Blutdruckerhöhung und Milzkontraktion parallel, so daß man für diese Substanzen eine generellere Wirkung auf das Gefäßsystem und die Speicherorgane annehmen muß.

In einzelnen Versuchen wurde der Schwellenwert durch lokale Injektion des Wirkstoffes in die Milzarterie festgestellt, der sich für Adrenalin und Sympatol bei Verdünnungen zwischen $1 : 10^8 — 1 : 10^{10}$ befand.

Histamin erzeugt als einziger der untersuchten Körper eine Kombination von Milzkontraktion und Blutdrucksenkung.

[6] Domenjoz, R., u. A. Fleisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 645.

Aus der Medizinischen Universitätspoliklinik Breslau.
(Leiter: Prof. Dr. A. Bittorf.)

Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens.

II. Experimentelle Untersuchungen. Der Einfluß der Ernährung auf den Kohlehydratgehalt des Herzens.

Von

Hans Liebig.

(Eingegangen am 9. Juli 1940.)

Im ersten Teil der Untersuchungen über den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens wurde der Versuch gemacht, den physiologischen Kohlehydratbestand des menschlichen Leichenherzens im Augenblick des Todes zu bestimmen und rein empirisch festzustellen, inwieweit die verschiedensten Erkrankungen ihn beeinflussen. Es wurde weiter versucht, die vorhandenen gesetzmäßigen Beziehungen herauszuarbeiten und das Verhalten der Herzkohlehydrate unter den verschiedenen Bedingungen festzulegen. Es zeigte sich dabei, daß die Erkenntnismöglichkeiten am menschlichen Leichenherzen begrenzt sind, einmal, weil die postmortalen Veränderungen nicht voll zu übersehen sind, und dann, weil eine Vergleichsmöglichkeit mit Herzen gesunder Menschen und dem Verhalten der Skeletmuskulatur fehlte. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, das Problem des Kohlehydratstoffwechsels im Tierexperiment weiter zu verfolgen.

Die Aufgabe der folgenden Untersuchungen ist es, den Kohlehydrathaushalt des Herzens im Experiment am lebenden Tier durch die verschiedensten Eingriffe zu beeinflussen und zu prüfen, ob der Herzmuskel sich diesen Einwirkungen gegenüber anders verhält als der Skeletmuskel und insofern eine Sonderstellung einnimmt. Bei diesem Vorgehen ist zu hoffen, daß ein tieferer Einblick in das Stoffwechselgeschehen des Herzens zu gewinnen ist, und daß es gelingt, gesetzmäßige Bedingungen aufzufinden. Das Tierexperiment bietet den Vorteil, daß bei geeignetem Vorgehen die postmortalen Veränderungen der Herzkohlehydrate weitgehend vermieden werden können und die Verhältnisse infolgedessen übersichtlicher bleiben als beim menschlichen Leichenherzen. Auf der anderen Seite ist der Nachteil in Kauf zu nehmen, daß es nicht möglich ist, der menschlichen Pathologie vergleichbare Krankheiten beim Versuchstier zu erzeugen. Es wurde zunächst der Einfluß der Ernährung, dann der Einfluß verschiedener Pharmaka und Hormone, sowie des Fiebers auf den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens untersucht und mit der Einwirkung auf den Skeletmuskel verglichen.

Einen erschöpfenden Überblick über die Literatur zu geben, ist nicht beabsichtigt. Insbesondere kann hier auf die zahlreichen Arbeiten am isolierten Herzen nicht näher eingegangen werden. Als wesentliches Ergebnis dieser zahlreichen, sich zum Teil widersprechenden Einzeluntersuchungen über den Stoffwechsel des isolierten Kalt- oder Warmblüterherzens scheint festzustehen, daß das isoliert schlagende Herz bei seiner Tätigkeit der Nährlösung Zucker, in erster Linie Traubenzucker, entnehmen kann, daß aber ein bestimmtes Verhältnis zwischen der Arbeitsleistung und dem Zuckerverbrauch nicht besteht. Auf der anderen Seite scheint auch erwiesen zu sein, daß ein glykogenarmes Herz kräftig schlagen kann, ohne aus der Nährlösung Zucker zu verbrauchen. Die Kohlehydrate sind nicht der einzig mögliche Kraftspender für das Herz, auch fettartige und stickstoffhaltige Substanzen kommen dafür in Betracht. Unter anaeroben Verhältnissen ist die Aufspaltung der Kohlehydrate in Milchsäure die hauptsächlichste Energiequelle, aerob überwiegt aber der oxydative Abbau von Eiweiß, der nach Clark[1] die Hälfte bis zwei Drittel des gesamten O_2-Verbrauches ausmacht. Am Tätigkeitsstoffwechsel des Herzens wären die Kohlehydrate demnach höchstens zu einem Drittel beteiligt. Dieses Verhalten des Herzens bedeutet dem Skeletmuskel gegenüber eine Besonderheit. Diese Sonderstellung des Herzens geht auch aus den Resultaten der Arbeiten hervor, die sich mit dem Kohlehydratgehalt des Herzens unter den verschiedensten Bedingungen im Augenblick des Todes beschäftigen, und insofern physiologischere Methoden verwenden, als sie den Kohlehydratstoffwechsel des Herzens im Rahmen des Gesamtkohlehydratstoffwechsels in den Kreis der Untersuchung und Betrachtung ziehen. So ergaben die chemischen Untersuchungen Boruttaus[2], daß das Glykogen des Herzmuskels nach dem Tode rascher abgebaut wird als das des Skeletmuskels, und Jensen[3] wies nach, daß der Glykogengehalt der Herzen hungernder Hunde noch normale Werte zu einer Zeit zeigt, wo der der Beinmuskulatur schon auf $^1/_{10}$ oder $^1/_{30}$ der Norm zurückgegangen war. Nach Külz[4] hält das Herz auch bei starker Muskelarbeit sein Glykogen energischer fest als die Skeletmuskulatur. Sehr sorgfältige und ausführliche Untersuchungen über das Gewicht und die chemische Zusammensetzung des Hundeherzens, insbesondere seinen Glykogengehalt, unter den verschiedensten Ernährungsbedingungen, im Phlorrhizin- und im Pankreasdiabetes, sowie nach Verabfolgung von Adrenalin, Insulin und Cholin hat Junkersdorf[5] mit seinen Mitarbeitern durchgeführt und unter Benutzung früherer Arbeiten tabellarisch übersichtlich zusammengestellt. Junkersdorf hebt zunächst die zum Teil stark ausgeprägte Individualität und Variabilität der Gewichte und der chemischen Zusammensetzung der Herzen bei völlig gleich behandelten Tieren hervor. So schwanken z. B. die Herzglykogenwerte seiner Normalhunde bei einem Mittelwert von 0,47 g% zwischen 0,16 und 0,64 g%. Im Hungerzustand nimmt auch das Herz an der allgemeinen Inanitionsatrophie teil, aber weniger als die übrigen Organe. Sein Glykogengehalt, der bei normal ernährten Hunden unter dem der Skeletmuskulatur liegt, ist nach Hungernlassen der Tiere, zum Teil sogar beträchtlich, erhöht, während der Fettgehalt verringert ist. Bei den Glykogenmasthunden ist der Glykogenvorrat des Herzens dagegen in den meisten Fällen unternormal, während er in der Skeletmuskulatur um das Zwei- bis Dreifache vermehrt ist. Gerade bei dieser Untersuchungsserie zeigen sich aber sehr große individuelle Verschiedenheiten. Bei den einseitig mit Fleisch und Fett oder mit Fett oder ausschließlich mit Eiweiß ernährten Hunden ist der Glykogengehalt des Herzens höher als bei den normal gefütterten Hunden,

---

[1] Clark: J. Physiol. (Brit.) **77**, 432 (1933). — [2] Boruttau: Z. physiol. Chem. **18**, 513 (1894). — [3] Jensen: Ebenda **35**, 514, 525 (1902). — [4] Külz: Beitr. z. Kenntnis d. Glykogens, Marburg 1890; ref. Handb. d. Biochemie von C. Oppenheimer **4**, I (1911). — [5] Junkersdorf u. Hanisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **123**, 229 (1927).

der der Skeletmuskulatur dagegen erheblich herabgesetzt. Während bei mit Phlorrhizin behandelten hungernden Hunden alle übrigen Organe, insbesondere Leber und Skeletmuskulatur, Glykogen nur noch in Spuren enthalten, zeigt das Herz einen ganz ausgesprochenen Glykogenreichtum. Die gleiche Sonderstellung nimmt es beim Pankreasdiabetes ein, bei dem es nach Hungertagen sein Glykogen sehr schnell verliert, bei vollwertiger Fütterung aber übernormale Glykogenwerte erreicht. Der Herzglykogengehalt der mit Insulin, Cholin und Adrenalin behandelten Tiere ist weitgehend abhängig von der Art der gleichzeitig durchgeführten Ernährung. Junkersdorf weist mit Recht auf die Bedeutung seiner Versuchsergebnisse für die Experimente am isolierten Herzen hin, für deren Beurteilung demnach die genaue Kenntnis der Vorbehandlung des betreffenden Tieres, vor allem seiner Ernährung, unerläßlich sei. Auch aus zahlreichen Arbeiten anderer Autoren geht hervor, daß der Herzstoffwechsel gegenüber dem Stoffwechsel des Skeletmuskels eine Sonderstellung einnimmt. Zur Vermeidung von Wiederholungen soll hier im wesentlichen nur auf die Arbeiten eingegangen werden, die sich mit der Beeinflussung des Kohlehydratstoffwechsels des Herzens durch die Ernährung beschäftigen, während die anderen Arbeiten jeweils bei den späteren Veröffentlichungen besprochen werden sollen. Nach Willing[6] beträgt der Glykogengehalt des Kaninchenherzens nach dreitägigem Hungernlassen des Tieres im Mittel noch 0,400 g% und fällt erst am vierten Tage ab, und nach Lawrence[7] sinkt das Herzglykogen im Rattenherzen nach zweitägigem Hungern des Tieres nicht, auch nicht nach Phlorrhizinvergiftung, während das Skeletmuskelglykogen bereits stark abgebaut ist. Long und Evans[8] fanden nach 48stündigem Hungern bei Albinoratten sogar einen Anstieg des Glykogens im Herzen, im Gastrocnemius dagegen einen deutlichen Glykogenschwund. Auch Dittmar[9] beobachtete in den Herzen hungernder Ratten eine von Tag zu Tag zunehmende Glykogenanreicherung. Diesen durch chemische Analysen gewonnenen Befunden entsprechen die histochemischen Ergebnisse, auch wenn sie gegenüber den chemischen Methoden nur grobe Schätzungen zulassen. So führt nach Lipska-Mladowska[10] eine kohlehydratreiche Ernährung bei Ratten zu einer bedeutenden Glykogenvermehrung in der Skeletmuskulatur, nicht aber im Myocard, während es im Gegensatz dazu beim Kaninchen zu einer beträchtlichen Glykogenanhäufung im Herzmuskel kommt. In den Herzen junger Hunde konnte Kasahara[11] auch bei Unterernährung noch normale Glykogenmengen nachweisen, während der Glykogenvorrat in der Leber und in der Skeletmuskulatur stark vermindert war. Auch nach Valdes[12] nimmt das Herzglykogen nach Hungertagen bei Kaninchen, Meerschweinchen, Katzen und Hunden verhältnismäßig wenig ab. Erwähnt seien schließlich noch die histochemischen Untersuchungen Vohwinkels[13], die die jahreszeitlichen Schwankungen des Glykogengehaltes der Froschleber im Froschherzen vermissen ließen und somit auch in dieser Hinsicht ein besonderes Verhalten des Herzmuskels aufzeigten. Gesamtkohlehydratbestimmungen im Tierherzen wurden, soweit ich die Literatur übersehe, erstmalig von Schenk[14] durchgeführt. Er bestimmte außerdem das Glykogen und die Milchsäure. Durch Verwendung von flüssiger Luft schaltete er die postmortalen Einflüsse weitgehend aus und erzielte daher bei den Normaltieren Werte mit verhältnismäßig geringen Schwankungen, besonders für das Glykogen. Gerade die Glykogenzahlen wiesen bei den früheren Autoren

---

[6] Willing, Amer. J. Physiol. **94**, 35 (1930). — [7] Lawrence, Biochem. J. **25**, 570 (1931). — [8] Long u. Evans: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **30**, 186 (1932). — [9] Dittmar: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **171**, 496 (1933). — [10] Lipska-Mladowska: Beitr. path. Anat. **64**, 18 (1917). — [11] Kasahara: Kyoto-Ikadaigaku-Zasshi **2**, 439; ref. Ronaber. **46**, 92 (1928). — [12] Valdes: Virchows Arch. **274**, 361 (1930). — [13] Vohwinkel: Pflügers Arch. **203**, 632 (1924). — [14] Schenk: Ebenda **202**, 313 (1923).

stets außerordentlich große Unterschiede auf, die mit dem verschieden schnellen Arbeiten zusammenhingen. Schenk gibt als normalen Glykogengehalt des Hundeherzens 0,3688—0,5124 g%, des Skeletmuskels 0,4598—0,5708 g% an. Die entsprechenden Zahlen für die Gesamtkohlehydrate sind 0,5598—0,7471 g% und 0,6881—0,7602 g%. Die Milchsäurewerte sind äußerst gering. Schenk vermutet, daß es überhaupt keinen Ruhemilchsäuregehalt des Warmblütermuskels gibt, und daß die gefundenen Mengen nur als Folgeerscheinung der Herausnahme und der Zerkleinerung der Muskulatur anzusehen sind. Schenks Zahlen sind jedoch an einer relativ geringen Menge von Versuchstieren gewonnen worden. Mit größeren Tierserien arbeiteten Lasch und Triger[15] unter Verwendung einer colorimetrischen Bestimmungsmethode. Der Durchschnittsgesamtkohlehydratgehalt des Rattenherzens beträgt nach ihnen bei einer Serie von 12 Tieren 0,860 g%, wobei als höchster Wert 1,000 g%, als niedrigster 0,697 g% gefunden wurde. Bei 12 Meerschweinchen stellten sie im Herzen einen mittleren Gesamtkohlehydratgehalt von 0,785 g% bei einem Höchstwert von 1,000 g% und einem Minimalwert von 0,620 g%, und in der Leber einen durchschnittlichen Gesamtkohlehydratgehalt von 2,800 g% fest, wobei der höchste Wert 7,000 g%, der niedrigste 1,250 g% betrug. Die individuellen Schwankungen der Gesamtkohlehydratwerte im Herzen sind also auch bei Ratten und Meerschweinchen sehr groß, die Leberwerte weisen bei den Meerschweinchen sogar Unterschiede bis 560% auf.

Eigene Untersuchungen.

Zu den folgenden Untersuchungen wurden ausgewachsene Kaninchen mit einem durchschnittlichen Gewicht von 1,6—2,5 kg benutzt. Die empfindlichen Albinos wurden nicht verwendet. Wenn irgend möglich wurden Tiere des gleichen Wurfes, zumindest aber einigermaßen gleichaltrige Tiere gewählt. In den Versuch kamen sie erst nach einer gewissen Gewöhnungszeit an Umgebung und Kost. Für die Ernährungsversuche wurden die Tiere, ebenso wie die Kontrolltiere, mindestens 14 Tage lang mit der für sie bestimmten Kost gefüttert. Am Vortage jedes Versuches, bzw. der Tötung — und das gilt auch für alle in späteren Veröffentlichungen mitzuteilenden Versuche — wurden die Kaninchen in einen Leerkäfig gesetzt und nüchtern gehalten. Obwohl gerade beim Kaninchen der Kohlehydratstoffwechsel sehr labil ist, und deswegen die Kohlehydratwerte im Muskel erheblichen individuellen Schwankungen unterliegen (Junkersdorf[16], Masayama und Riesser[17]), wurden sie für unsere Versuche benutzt, weil bei der großen Zahl der jedesmal auszuführenden Bestimmungen die Herzen anderer Laboratoriumstiere, wie Ratten und Meerschweinchen, für unsere Zwecke zu klein gewesen wären und die für jede Analyse zur Verfügung stehende Herzmuskelmenge für exakte Untersuchungen nicht ausgereicht hätte. Den für derartige Versuche besonders geeigneten Hund zu verwenden, war schon wegen der großen Anzahl der erforderlichen Versuche nicht angängig. Aus der Literatur geht außerdem

[15] Lasch u. Triger: Z. exper. Med. **85**, 390 (1932) u. **88**, 588 (1933). — [16] Junkersdorf, a. a. O. — [17] Masayama u. Riesser: Biochem. Z. **234**, 323 (1931).

hervor, daß die individuellen Schwankungen des Kohlehydratgehaltes des Herz- und Skeletmuskels bei Ratten und Meerschweinchen nicht geringer sind als beim Kaninchen. Um den an sich schon sehr großen Verbrauch an Tiermaterial nicht noch mehr zu steigern, wurde auf die jedesmalige gleichzeitige Untersuchung eines Kontrolltieres oder einer Kontrollserie bei den einzelnen Versuchsreihen bewußt verzichtet. Jahreszeitliche Unterschiede im Kohlehydratgehalt der Organe und der Muskeln wurden dadurch weitgehend ausgeschaltet, daß die Kaninchen in allen Jahreszeiten gleichmäßig ernährt wurden und jeder Versuch in den verschiedenen Jahreszeiten wiederholt wurde. Infolgedessen stimmen die Einzelwerte im Sommer wie im Winter sowohl bei der Kontrollserie wie bei den Versuchsreihen gut überein.

Es wurden das Glykogen, die Gesamtkohlehydrate, die Milchsäure und das Trockengewicht im Herzen, im Skeletmuskel und bei den meisten Tieren auch in der Leber bestimmt. Sämtliche Werte beziehen sich auf das Feuchtgewicht. Die in den Tabellen benutzten Abkürzungen entsprechen denen in der ersten Mitteilung. Als Zwischenkohlehydrate (Zwischen-KH) sind nach dem Vorgehen von Schenk[18] alle zwischen dem Glykogen und der Milchsäure liegenden Kohlehydrate und Kohlehydratabbauprodukte bezeichnet. Auch bei den Tierexperimenten wurde der Versuch unternommen, eine möglichst vollständige und dem physiologischen Kohlehydratbestand im Augenblick des Todes entsprechende Kohlehydratbilanz aufzustellen, indem zu dem Gesamtkohlehydratwert die auf den äquivalenten Traubenzuckerwert umgerechnete Milchsäuremenge addiert wurde (Liebig[19]). Das Additionsprodukt wurde nach dem früheren Vorgehen als „berechneter Kohlehydratbestand" (ber. KH-Bestand) bezeichnet. Da es bei schnellem Arbeiten und bei Verwendung von flüssiger Luft möglich ist, den postmortalen Kohlehydratabbau weitgehend zu verhindern, konnten die beim Arbeiten am menschlichen Leichenherzen zum Teil völlig unübersehbaren postmortalen Veränderungen insofern vermieden werden, als es zweifellos gelang, alle im Augenblick des Todes vorhandenen Kohlehydrate zu erfassen, obwohl natürlich innerhalb des Kohlehydratdepots gewisse Verschiebungen stattfinden. Mit einem postmortalen Milchsäureschwund braucht bei der Kürze der bis zur völligen Unterbrechung des fermentativen Kohlehydratabbaus vergehenden Zeit sicher nicht gerechnet zu werden. Die gefundenen Werte dürften daher, selbstverständlich unter Berücksichtigung der den chemischen Methoden anhaftenden Fehler, den tatsächlichen Verhältnissen ziemlich entsprechen. Getrennte Bestimmungen im rechten und linken Herzen wurden mit Rücksicht auf die Zahl der einzelnen Analysen und die Menge der dafür benötigten Herzmuskelmasse im Interesse der gebotenen Genauigkeit nicht ausgeführt.

---

[18] Schenk: a. a. O. — [19] Liebig: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 465 (1940).

Methodik.

Die Tiere wurden durch Nackenschlag getötet und aus der Carotis entblutet. Obwohl damit zu rechnen war, daß durch unvermeidliche prämortale und agonale Muskelzuckungen Verschiebungen des Kohlehydratgehaltes im Sinne eines Abbaues stattfinden würden, wurde mit Rücksicht auf die Angaben von Frank und Förster[20], Schenk[21], Long[22] und Brentano[23] von einer Betäubung der Tiere abgesehen. Nach Frank und Förster führt eine Morphinbetäubung zu einer starken Verminderung des Leberglykogens, Schenk und Long sahen nach Chloroformnarkosen eine Verringerung des Muskelglykogens, und Brentano beobachtete nach Urethan- und Magnesiumsulfatgaben einen gewaltigen Glykogensturz im Skeletmuskel. Nach Tachi[24] hat eine Blutentnahme beim Kaninchen eine starke Abnahme der Glykogendepots in den Muskeln und in der Leber zur Folge. Es ist also wahrscheinlich, daß auch das Entbluten des Tieres ähnliche Veränderungen hervorruft. Diese methodischen Schwierigkeiten werden nie ganz zu überwinden sein. Nach erfolgter Entblutung wurde der Brustkorb schnell geöffnet, das Herz herausgenommen, aus den schnell aufgeschnittenen Herzkammern noch etwa vorhandenes Blut entfernt, das Herz mit einem Scherenschlag von den großen Gefäßen getrennt und umgehend in ein bereitgestelltes Gefäß mit flüssiger Luft geworfen. Gleichzeitig wurde aus der Streckmuskulatur, des rechten Oberschenkels ein Muskelstück herausgeschnitten und ein Stück aus dem rechten Leberlappen entnommen und ebenfalls schnellstens in flüssige Luft gebracht. Der rechte Leberlappen wurde deswegen regelmäßig gewählt, weil nach den Angaben von Scheiff[25] das Glykogen in den einzelnen Leberabschnitten nicht gleichmäßig verteilt ist. Auf eine möglichst schonende Behandlung und auf Vermeidung jeder überflüssigen mechanischen Verletzung der Präparate wurde besonders geachtet. Vom Nackenschlag bis zum Einbringen der Herz-, Muskel- und Leberstückchen in die flüssige Luft vergingen durchschnittlich $2-2^1/_2$ Minuten. Die völlig durchgefrorenen Muskel- und Leberstückchen und das Herz wurden dann in einem Mörser unter ständigem Zugießen von flüssiger Luft fein pulverisiert. Dabei wurde besonders auf eine gute Durchmischung des Herzmuskelpulvers geachtet. Das Pulver wurde darauf in die bereitstehenden Erlenmeyer-Kolben mit den entsprechenden Lösungen überführt, und zwar wurde durchschnittlich, je nach der Größe des Herzens, 0,5—1,5 g Herz- und Skeletmuskel und die entsprechende Menge Leber für jede Bestimmung verwendet. Die Kolben blieben dann ungefähr $^1/_2$ Stunde zur Angleichung an die Zimmertemperatur im Wägeraum stehen. Nach erfolgter Wägung wurden sie sofort in das Wasserbad gesetzt, bzw. wurde die Sublimatfällung zur Milchsäurebestimmung vorgenommen. Die Bestimmung des Glykogens, der Gesamtkohlehydrate und der Milchsäure wurde nach den früher genannten Methoden ausgeführt[26]. Bei allen Analysen wurden Doppelbestimmungen gemacht.

Ergebnisse.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind aus den folgenden Tabellen zu ersehen.

Ein Blick auf die Tabelle 1 zeigt, daß die Mittelwerte für Glykogen, Gesamtkohlehydrate, Milchsäure und berechneten Kohlehydratbestand

---

[20] Frank u. Förster: Biochem. Z. **159**, 48 (1925). — [21] Schenk: a. a. O., S. 329 u. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **99**, 206 (1923). — [22] Long: J. biol. Chem. (Am.) **77**, 563 (1928). — [23] Brentano: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **155**, 21 (1930). — [24] Tachi: Tohoku J. exper. med. (Jap.) **7**, 197 (1926); ref. Ronaber. **37**, 576 (1926). — [25] Scheiff: Pflügers Arch. **226**, 481. — [26] Liebig: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 465 (1940).

Tabelle 1. Normaltiere.

Lfd. Nr.	Tier Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zwischen-KH g%	Milchsäure g%	Ber. KH-Bestand g%	Trockengewicht g%	Blutzucker g%
1	1	Herz	0,468	1,965	1,479	0,145	2,037	21,1	—
		Muskel	0,215	1,833	1,618	0,299	1,982	22,2	—
2	2	Herz	0,546	1,560	1,014	0,233	1,676	18,2	—
		Muskel	0,344	1,291	0,847	0,374	1,464	20,2	—
3	3	Herz	0,587	1,701	1,114	0,347	1,874	20,5	—
		Muskel	0,213	1,669	1,456	0,220	1,779	17,8	—
4	4	Herz	0,335	1,480	1,145	0,188	1,574	20,7	—
		Muskel	0,218	1,314	1,096	0,317	1,472	19,5	—
5	5	Herz	0,378	1,368	0,990	0,289	1,512	19,7	—
		Muskel	0,341	1,296	0,955	0,208	1,400	20,0	—
6	6	Herz	0,311	1,297	0,986	0,236	1,415	21,9	—
		Muskel	0,189	1,256	1,067	0,287	1,399	18,5	—
7	7	Herz	0,312	1,613	1,301	0,347	1,786	18,3	—
		Muskel	0,348	2,003	1,655	0,178	2,092	18,9	—
8	25	Herz	0,264	1,443	1,179	0,109	1,497	18,8	—
		Muskel	0,387	1,398	1,011	0,076	1,436	20,2	—
9	31	Herz	0,341	1,238	0,897	0,150	1,313	22,3	—
		Muskel	0,268	1,346	1,078	0,250	1,471	21,8	—
10	68	Herz	0,279	1,407	1,128	0,136	1,475	21,8	0,171
		Muskel	0,452	1,644	1,192	0,256	1,772	25,7	
		Leber	1,700	4,437	2,737	0,070	4,472	26,1	
11	69	Herz	0,279	1,581	1,302	0,218	1,690	19,9	0,152
		Muskel	0,316	1,739	1,423	0,203	1,840	22,0	
		Leber	4,505	5,825	1,320	0,092	5,871	27,4	
12	70	Herz	0,447	1,418	0,971	0,030	1,433	21,3	0,126
		Muskel	0,560	1,524	0,964	0,064	1,556	23,3	
		Leber	8,270	12,160	3,890	0,063	12,191	31,0	
13	97	Herz	0,462	1,467	1,005	0,130	1,532	19,1	0,122
		Muskel	0,531	1,576	1,045	0,203	1,677	22,1	
		Leber	5,780	6,400	0,620	0,116	6,458	25,6	
14	98	Herz	0,474	1,489	1,015	0,188	1,583	22,5	0,148
		Muskel	0,498	1,615	1,117	0,226	1,728	21,7	
		Leber	11,960	12,025	0,065	0,077	12,063	28,9	
15	99	Herz	0,350	1,522	1,172	0,213	1,628	24,0	0,104
		Muskel	0,300	1,604	1,304	0,202	1,705	24,1	
		Leber	0,525	2,270	1,745	0,100	2,320	29,0	
16	100	Herz	0,349	1,548	1,199	0,227	1,661	21,1	0,152
		Muskel	0,319	1,509	1,190	0,180	1,599	22,8	
		Leber	2,925	4,540	1,615	0,105	4,592	27,4	
Mittelwerte		Herz	0,387	1,506	1,125	0,199	1,605	20,7	0,139
		Muskel	0,344	1,538	1,211	0,220	1,648	21,3	
		Leber	5,095	6,808	1,713	0,089	6,852	27,9	

im Herzen sich von denen im Skeletmuskel nicht wesentlich unterscheiden, daß bei den einzelnen Tieren aber zwischen Herz- und Skeletmuskel

vielfach größere Unterschiede bestehen. Beim Vergleich der einzelnen Tiere untereinander weisen die absoluten Werte sowohl im Herzen wie im Skeletmuskel der verschiedenen Tiere zum Teil erhebliche Schwankungen auf. Die größten Abweichungen im Glykogen- und im Gesamtkohlehydratgehalt sind jedoch in der Leber zu verzeichnen. Sie sind so beträchtlich, daß die Leber als Vergleichsorgan für das Herz praktisch überhaupt nicht in Frage kommen kann. Schon aus dieser Übersicht der „Normalwerte" geht hervor, daß für Vergleichszwecke nur die Zahlen wertvoll und aufschlußreich sind, die aus einer größeren Reihe von Einzeluntersuchungen als Durchschnittswert ermittelt werden. Der Glykogengehalt von Herz- und Skeletmuskel ist nicht nur abhängig von individuellen Verhältnissen, sondern vor allem von der Schnelligkeit des Arbeitens, da gerade beim Kaninchen die Glykogenolyse außerordentlich rasch einsetzt. Das Ausmaß des Glykogenabbaues wird aber weiterhin auch bestimmt von prämortalen und agonalen Muskelzuckungen und im Herzen davon, wie lange das Herz nach Unterbrechung des Blutkreislaufes noch zuckt. Der Vergleich der Glykogenzahlen bei den einzelnen Versuchsserien hat aus allen diesen Gründen daher nur einen bedingten Wert. Der von uns gefundene mittlere Glykogengehalt des Kaninchenherzens steht jedoch mit den neueren Literaturangaben in guter Übereinstimmung. So geben ihn Fieschi[27] mit 0,410 g% und Sekiguchi[28] mit 0,407 g% an. Das Ausmaß der Milchsäurebildung ist bei den einzelnen Kaninchen recht verschieden. Es wird zweifellos zum erheblichen Teil durch prämortale und agonale Zuckungen des Herz- und Skeletmuskels mitbestimmt. In der Hauptsache dürfte jedoch die Milchsäure als postmortales Abbauprodukt anzusprechen sein. Das Trockengewicht zeigt im Herzen Abweichungen, die im allgemeinen 10% des letzteren nach oben und unten nicht überschreiten. Die Schwankungen im Skeletmuskel sind etwas größer. Die Blutzuckerwerte, die am Tötungstage bestimmt wurden, weichen erheblich voneinander ab.

Die Hungertiere saßen 7 bis 9 Tage im Versuch, und zwar so lange, bis der starke Gewichtssturz auf das baldige Ende des Tieres hinwies. In dieser Zeit wurde ihnen nur Wasser vorgesetzt.

Bei allen Hungertieren mit Ausnahme des Kaninchens Nr. 20 ist das Herz wesentlich glykogenreicher als der Skeletmuskel. Der Mittelwert für das Glykogen entspricht etwa dem der Kontrolltiere. Der Skeletmuskel weist dagegen im einzelnen wie im Durchschnitt einen starken Glykogenschwund auf. Die Gesamtkohlehydrate sind im Herzen gegenüber den Normaltieren im Mittel deutlich angereichert, im Skeletmuskel vermindert. Die Milchsäure ist im Durchschnitt im Herzen erheblich, im Skeletmuskel nur unbedeutend vermehrt. Infolgedessen tritt die Kohlehydratanreicherung im berechneten Kohlehydratbestand des Herzens

[27] Fieschi: Z. exper. Med. **86**, 387 (1935). — [28] Sekiguchi: Jap. J. med. Sci. Vol. III, Nr. 3, 161 (1935).

Tabelle 2. Hungertiere.

Lfd. Nr.	Tier Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zwischen-KH g%	Milchsäure g%	Ber. KH-Bestand g%	Trockengewicht g%	Blutzucker g%
1	15	Herz	0,481	1,321	0,840	0,293	1,467	20,4	—
		Muskel	0,204	1,348	1,144	0,153	1,424	21,6	
2	20	Herz	0,108	1,584	1,476	0,217	1,692	21,9	—
		Muskel	0,191	1,408	1,217	0,342	1,579	21,2	
3	86	Herz	0,272	1,542	1,270	0,350	1,717	18,8	0,117
		Muskel	0,079	1,543	1,464	0,213	1,649	22,1	
		Leber	0,615	3,025	2,410	0,095	3,072	27,7	
4	87	Herz	0,464	1,808	1,344	0,251	1,933	21,5	0,145
		Muskel	0,114	1,349	1,235	0,262	1,480	22,4	
		Leber	0,877	2,257	1,380	0,066	2,290	29,5	
5	114	Herz	0,426	1,614	1,188	0,388	1,808	19,8	0,109 (1. 2.)
		Muskel	0,181	1,605	1,424	0,302	1,756	21,5	0,143 (8. 2.)
		Leber	0,667	2,379	1,712	0,149	2,453	29,1	
6	115	Herz	0,408	1,602	1,194	0,367	1,785	20,0	0,120 (2. 2.)
		Muskel	0,141	1,312	1,171	0,258	1,441	22,3	0,150 (9. 2.)
		Leber	0,975	2,685	1,710	0,135	2,752	28,5	
Mittelwerte		Herz	0,360	1,578	1,218	0,311	1,733	20,4	0,139
		Muskel	0,152	1,427	1,275	0,255	1,555	21,8	
		Leber	0,783	2,586	1,803	0,111	2,642	28,7	

noch eindrucksvoller hervor. Der Kohlehydratgehalt der Leber ist nach Hungertagen beträchtlich vermindert. Die Leberwerte weisen bei den einzelnen Tieren im Gegensatz zu den Kontrolltieren nur verhältnismäßig geringe Unterschiede auf. Fassen wir zusammen, so ist als wichtigstes Ergebnis festzustellen, daß Hungernlassen im Durchschnitt zu einer Anreicherung der Herzkohlehydrate führt, während die Skeletmuskelkohlehydrate etwas vermindert sind. Es kommt weiter zu einer Verschiebung innerhalb der Kohlehydrate in dem Sinne, daß das Glykogen im Skeletmuskel einem schnelleren Abbau unterliegt als bei den normal gefütterten Tieren, während das Herz sichtlich bestrebt ist, seinen Glykogenvorrat zäh zu bewahren. Unsere Befunde stimmen mit den Literaturangaben über das Verhalten des Herzglykogens im Hungerzustand gut überein und zeigen darüber hinaus, daß der gesamte Kohlehydratvorrat des Herzens unter dem Einfluß des Hungers eine absolute Vermehrung erfährt.

Die Tiere der folgenden Untersuchungsreihe wurden 14 Tage lang mit Hafer gefüttert und erhielten daneben Wasser.

Nach J. König und Ragnar Berg enthält der Hafer etwa 60% Anionen und 40% Kationen. Die Haferverfütterung ist also eine saure und kohlehydratreiche Ernährung. Nach Haferkost entspricht der durchschnittliche berechnete Kohlehydratgehalt des Herzens vollkommen dem der Kontrolltiere, wobei bei den einzelnen Versuchstieren die individuellen Unterschiede wesentlich geringer sind als bei den letzteren. Der Skelet-

Tabelle 3. Haferkost.

Lfd. Nr.	Tier Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zwischen-KH g%	Milchsäure g%	Ber. KH-Bestand g%	Trockengewicht g%	Blutzucker g%
1	9	Herz	0,263	1,696	1,433	0,146	1,769	18,6	—
		Muskel	0,436	1,848	1,412	0,128	1,912	17,9	
2	10	Herz	0,263	1,618	1,355	0,169	1,702	17,1	—
		Muskel	0,322	1,844	1,522	0,131	1,909	19,7	
3	11	Herz	0,223	1,572	1,349	0,146	1,645	17,9	—
		Muskel	0,220	2,089	1,869	0,138	2,158	19,5	
4	12	Herz	0,122	1,318	1,196	0,282	1,459	21,5	—
		Muskel	0,215	1,316	1,101	0,153	1,392	20,6	
5	13	Herz	0,181	1,506	1,325	0,095	1,553	19,4	—
		Muskel	0,297	1,743	1,446	0,167	1,826	20,5	
6	14	Herz	0,123	1,480	1,357	0,149	1,554	19,2	—
		Muskel	0,432	1,384	0,952	0,119	1,443	19,5	
7	64	Herz	0,259	1,527	1,268	0,168	1,611	22,7	0,129
		Muskel	0,332	1,475	1,143	0,223	1,586	21,8	
		Leber	3,230	6,055	2,825	0,210	6,160	26,3	
8	65	Herz	0,438	1,769	1,331	0,240	1,889	21,0	0,100
		Muskel	0,290	1,732	1,442	0,315	1,889	23,8	
		Leber	0,865	3,525	2,660	0,192	3,621	28,6	
9	66	Herz	0,277	1,320	1,043	0,200	1,420	21,3	0,120
		Muskel	0,262	1,587	1,325	0,387	1,780	20,2	
		Leber	0,448	1,485	1,037	0,000	1,485	28,1	
10	67	Herz	0,419	1,555	1,136	0,159	1,634	23,2	0,115
		Muskel	0,615	1,883	1,268	0,245	2,005	22,1	
		Leber	0,060	2,110	2,050	0,126	2,173	26,6	
11	107	Herz	0,319	1,452	1,133	0,155	1,529	22,0	0,147
		Muskel	0,336	1,617	1,281	0,132	1,683	24,3	
		Leber	2,295	3,600	1,305	0,131	3,665	30,6	
12	108	Herz	0,357	1,669	1,312	0,140	1,739	22,9	0,124
		Muskel	0,330	1,651	1,321	0,126	1,714	23,9	
		Leber	10,215	10,485	10,270	0,135	10,552	31,6	
13	109	Herz	0,173	1,411	1,238	0,174	1,498	23,1	0,114
		Muskel	0,126	1,509	1,383	1,145	1,581	22,2	
		Leber	0,069	1,595	1,526	0,114	1,652	28,5	
Mittelwerte		Herz	0,263	1,530	1,267	0,171	1,616	20,8	0,121
		Muskel	0,324	1,667	1,343	0,185	1,760	21,2	
		Leber	2,455	4,122	3,096	0,130	4,187	28,6	

muskel ist dagegen im Mittel deutlich kohlehydratreicher als bei den normal gefütterten Kaninchen. Die durchschnittlichen Herzglykogenwerte sind um ein Drittel niedriger als bei der Kontrollserie, während das Glykogendepot des Skeletmuskels ungefähr der Norm entspricht. Bei mehreren Tieren ist ein so starker Herzglykogenabbau erfolgt, wie er bei keinem Normaltier zu beobachten ist. Die Milchsäurebildung ist im Herz- wie im Skeletmuskel geringer als bei den Normaltieren. Der Kohlehydratgehalt

der Leber zeigt wieder ähnlich starke individuelle Schwankungen wie bei den Kontrolltieren. Das mittlere Trockengewicht entspricht den Normalzahlen. Die Blutzuckerwerte weisen keine grundsätzlichen Unterschiede gegenüber denen in Tabelle 1 auf. Das Ergebnis dieser Versuche entspricht weitgehend den Angaben Junkersdorfs[29], der bei seinen Glykogenmasthunden meist unternormale Glykogenzahlen, im Skeletmuskel dagegen übernormale fand. Die Bestimmung der gesamten Herzkohlehydrate ergibt dagegen, daß diese durch eine kohlehydratreiche saure Kost nicht beeinflußt werden, und daß die stärkere Glykogenolyse nur durch eine Verschiebung innerhalb der an sich normalen Herzkohlehydrate bedingt ist.

Die folgende Tierserie wurde 14 Tage lang mit Rüben, also einer überwiegend alkalischen und kohlehydratarmen Kost gefüttert.

Tabelle 4. Rübenkost.

Lfd. Nr.	Tier Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zwischen-KH g%	Milchsäure g%	Ber. KH-Bestand g%	Trockengewicht g%	Blutzucker g%
1	18	Herz	0,273	1,211	0,938	0,152	1,287	24,2	—
		Muskel	0,221	1,331	1,110	0,299	1,480	22,8	
2	19	Herz	0,271	1,466	1,195	0,190	1,561	17,6	—
		Muskel	0,443	1,418	0,975	0,281	1,558	16,8	
3	21	Herz	0,203	1,371	1,168	0,164	1,453	19,4	—
		Muskel	0,157	1,276	1,119	0,186	1,369	19,7	
4	22	Herz	0,197	1,616	1,419	0,212	1,722	17,7	—
		Muskel	0,180	1,584	1,404	0,226	1,697	20,3	
5	101	Herz	0,269	1,766	1,497	0,265	1,898	19,8	0,133
		Muskel	0,411	1,633	1,222	0,225	1,745	20,9	
		Leber	8,755	10,470	1,715	0,068	10,504	28,7	
6	102	Herz	0,349	1,647	1,298	0,129	1,711	20,4	0,090
		Muskel	0,494	1,565	1,071	0,258	1,694	21,7	
		Leber	2,440	4,360	1,920	0,113	4,416	28,5	
7	103	Herz	0,280	1,138	0,858	0,172	1,224	19,9	0,115
		Muskel	0,341	1,346	1,005	0,211	1,451	20,3	
		Leber	1,465	7,395	5,930	0,119	7,504	28,8	
8	104	Herz	0,288	1,362	1,074	0,150	1,437	20,0	0,118
		Muskel	0,314	1,280	0,966	0,219	1,389	22,8	
		Leber	1,095	3,315	2,220	0,121	3,425	29,1	
9	105	Herz	0,209	1,294	1,085	0,166	1,377	22,2	0,144
		Muskel	0,375	1,423	1,048	0,203	1,524	23,6	
		Leber	2,000	4,270	2,270	0,119	4,329	27,4	
10	106	Herz	0,206	1,244	1,038	0,194	1,341	21,0	0,107
		Muskel	0,359	1,320	0,961	0,223	1,431	22,5	
		Leber	1,695	3,215	1,520	0,139	3,284	28,8	
Mittelwerte		Herz	0,254	1,411	1,157	0,179	1,501	20,2	0,118
		Muskel	0,329	1,417	1,088	0,233	1,534	21,1	
		Leber	2,908	5,504	2,596	0,113	5,577	28,5	

[29] Junkersdorf, a. a. O.

Einseitig alkalische Kost hat im Durchschnitt eine geringe, aber deutliche gleichsinnige Verminderung der Herz- und Skeletmuskelkohlehydrate im Gefolge. Das Glykogen verhält sich im Herzen wie im Skeletmuskel genau so wie bei einseitig saurer kohlehydratreicher Fütterung. Die Milchsäurewerte und das Trockengewicht unterscheiden sich kaum von den entsprechenden Mittelwerten bei den Kontrolltieren. Der Kohlehydratgehalt der Leber zeigt ebenfalls wieder starke individuelle Schwankungen.

In einer vierten Versuchsreihe wurde eine kohlehydratreiche alkalische Kost (Gemüsereste und Mohrrüben) verfüttert.

Tabelle 5. Gemüsereste und Mohrrüben.

Lfd. Nr.	Tier Nr.	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zwischen-KH g%	Milchsäure g%	Ber. KH-Bestand g%	Trockengewicht g%	Blutzucker g%
1	71	Herz	0,491	1,610	1,119	0,138	1,679	23,3	0,140
		Muskel	0,361	1,539	1,178	0,180	1,629	22,1	
		Leber	6,880	8,595	1,715	0,105	8,647	28,4	
2	72	Herz	0,278	1,437	1,159	0,113	1,493	20,5	0,148
		Muskel	0,369	1,743	1,374	0,319	1,902	23,3	
		Leber	3,110	8,580	5,470	0,102	8,631	29,0	
3	73	Herz	0,529	1,266	0,737	0,141	1,336	21,2	0,146
		Muskel	0,292	1,376	1,084	0,314	1,533	21,7	
		Leber	3,490	4,400	0,910	0,058	4,429	27,7	
4	74	Herz	0,707	1,391	0,684	0,147	1,464	21,6	0,141
		Muskel	0,528	1,624	1,096	0,270	1,759	22,2	
		Leber	5,830	7,435	1,605	0,189	7,529	30,8	
5	75	Herz	1,066	2,302	1,236	0,141	2,372	21,5	0,132
		Muskel	0,555	1,917	1,362	0,284	2,059	22,8	
		Leber	10,615	10,365	0,000	0,130	10,430	29,7	
6	76	Herz	0,424	1,723	1,299	0,331	1,888	23,0	0,125
		Muskel	0,467	1,884	1,417	0,203	1,985	20,7	
		Leber	3,470	4,823	1,353	0,132	4,889	28,4	
7	79	Herz	0,592	1,685	1,093	0,101	1,735	20,4	0,113
		Muskel	0,228	1,424	1,196	0,244	1,546	23,5	
		Leber	1,750	7,220	5,470	0,123	7,281	28,6	
8	80	Herz	0,377	1,405	1,028	0,235	1,522	21,8	0,104
		Muskel	0,219	1,343	1,124	0,372	1,529	22,5	
		Leber	1,500	3,605	2,105	0,193	3,701	28,5	
Mittelwerte		Herz	0,558	1,602	1,044	0,168	1,686	21,7	0,131
		Muskel	0,377	1,606	1,229	0,273	1,743	22,3	
		Leber	4,581	6,878	2,328	0,129	6,942	28,9	

Eine kohlehydratreiche alkalische Kost führt im Durchschnitt zu einer deutlichen Verzögerung der Glykogenolyse im Herzen. Der Glykogengehalt des Skeletmuskels ist dagegen nur unbedeutend erhöht. Der berechnete Kohlehydratgehalt ist im Herzen wie im Skeletmuskel gegenüber

den Kontrolltieren im Mittel gleichsinnig etwas vermehrt. Die Leber ist bei dieser Ernährung von allen Fütterungsversuchen im Mittel am kohlehydratreichsten und weist auch den größten mittleren Glykogenbesitz auf. Das Trockengewicht des Herzens und des Skeletmuskels ist höher als bei der Kontrollserie und bei den anderen Fütterungsversuchen.

Um einen besseren Überblick über die Resultate der Fütterungsversuche zu gewinnen, sind in der folgenden Tabelle die Durchschnittswerte nochmals zusammengestellt.

Tabelle 6. Zusammenstellung der Durchschnittswerte.

Fütterungsart	Tierzahl	Organ	Glykogen als Glucose g%	GKH g%	Zwischen-KH g%	Milchsäure g%	Ber. KH-Bestand g%	Trockengewicht g%
Normalkost	16	Herz	0,387	1,506	1,125	0,199	1,605	20,7
		Muskel	0,344	1,538	1,211	0,220	1,648	21,3
	(7)	Leber	5,095	6,808	1,713	0,089	6,852	27,9
Hungern	6	Herz	0,360	1,578	1,218	0,311	1,733	20,4
		Muskel	0,152	1,427	1,275	0,255	1,555	21,8
	(4)	Leber	0,783	2,586	1,803	0,111	2,642	28,7
Haferkost	13	Herz	0,263	1,530	1,267	0,171	1,616	20,8
		Muskel	0,324	1,667	1,343	0,185	1,760	21,2
	(7)	Leber	2,455	4,122	3,096	0,130	4,187	28,6
Rübenkost	10	Herz	0,254	1,411	1,157	0,179	1,501	20,2
		Muskel	0,329	1,417	1,088	0,233	1,534	21,1
	(6)	Leber	2,908	5,504	2,596	0,113	5,577	28,5
Gemüsereste u. Mohrrüben	8	Herz	0,558	1,602	1,044	0,168	1,686	21,7
		Muskel	0,377	1,606	1,229	0,273	1,743	22,3
		Leber	4,581	6,878	2,328	0,129	6,942	28,9

Zusammenfassung und Schlußfolgerungen.

Wie schon die bei den normal gefütterten Kaninchen gewonnenen Zahlen zeigen, schwanken die absoluten Werte für das Glykogen, die Gesamtkohlehydrate und die Milchsäure bei den verschiedenen Tieren in erheblichen Grenzen. Vergleichswerte sind daher nur durch zahlreiche Versuche und die Ermittlung von Durchschnittszahlen aus diesen zu gewinnen. Der Kohlehydratgehalt der Leber ist bei den einzelnen Tieren so großen Schwankungen unterworfen, daß er für Vergleichszwecke nicht in Frage kommen kann. Hungernlassen führt im Mittelwert zu einer Kohlehydratanreicherung im Herzen und zu einem Kohlehydratverlust im Skeletmuskel. Der Glykogengehalt im Skeletmuskel wird um mehr als die Hälfte abgebaut, während er im Herzen nicht angegriffen wird. Die Milchsäurebildung im Herzen wird durch den Einfluß des Hungers erheblich beschleunigt, so daß der durchschnittliche Milchsäurewert im Herzen bei dieser Versuchsserie von allen Versuchsreihen bei weitem der höchste ist. Bei einseitiger Haferkost, also einer kohlehydratreichen, sauren

Ernährung, entspricht der Kohlehydratvorrat des Herzens dem der Normaltiere, während der des Skeletmuskels deutlich angereichert ist. Die Glykogenolyse ist im Herzen im Gegensatz zum Skeletmuskel beschleunigt. Einseitige Rübenverfütterung, also Verabfolgung einer kohlehydratarmen alkalischen Kost, hat eine gleichmäßige Verminderung der Herz- und der Skeletmuskelkohlehydrate im Gefolge. Auch hier wird das Herzmuskelglykogen schneller abgebaut als bei den normal gefütterten Tieren, während der Skeletmuskel im Mittel normale Glykogenwerte aufweist. Bei kohlehydratreicher alkalischer Ernährung sind Herz- und Skeletmuskel etwas kohlehydratreicher als bei den Normaltieren. Am auffallendsten ist aber die starke Glykogenansammlung im Herzmuskel, die nur durch eine Verzögerung der Glykogenolyse bedingt sein kann. Auch hier besteht ein deutliches Andersverhalten des Herzens im Vergleich zum Skeletmuskel, dessen Glykogengehalt nur unwesentlich vermehrt ist.

Fassen wir die Ergebnisse zusammen, so ist festzustellen, daß die Art der Ernährung und der Hunger einen deutlichen Einfluß auf den Kohlehydratgehalt der Herz- und Skeletmuskulatur, aber auch der Leber ausüben. Sie zeigen, daß für die Beurteilung dieses Einflusses die Betrachtung des gesamten Kohlehydrathaushaltes unbedingt erforderlich ist, und daß die alleinige Untersuchung des Verhaltens des Glykogens zu Fehlschlüssen führen muß. Als das wichtigste Resultat dieser Versuche ist aber zu buchen, daß das Herz im Stoffwechselgeschehen gegenüber dem Skeletmuskel eine Sonderstellung einnimmt und daß es sichtlich bestrebt ist, seinen Kohlehydratvorrat äußeren Einflüssen gegenüber zäh zu bewahren. Das tritt am deutlichsten im Hungerzustand zutage. Auf der anderen Seite scheint das Herz aber auch bemüht zu sein, eine übermäßige Kohlehydratanreicherung zu vermeiden. Als Beitrag zur Frage der Bedeutung der Kohlehydrate für den Herzstoffwechsel lehren unsere Versuchsresultate, daß das Verhalten der Herzkohlehydrate unter den verschiedensten Ernährungsbedingungen und im Hungerzustand darauf hinweisen, daß den Kohlehydraten für den Stoffwechsel des Herzens zumindest eine außerordentlich wichtige Rolle zukommt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen haben insofern eine praktische ärztliche Bedeutung, als sie zeigen, daß es durch eine entsprechende Ernährungsbehandlung möglich ist, dem Herzen die für seine Arbeit zweifellos außerordentlich wichtigen Kohlehydrate in besonders reichlicher Menge zuzuführen. Die dafür zweckmäßigste Ernährung wäre nach den Erfahrungen dieser Arbeit — die natürlich nicht ohne weiteres auf den Menschen übertragen werden dürfen — eine kohlehydrat- und gemüsereiche Kost.

Anmerkung: Eine Korrektur der Literaturangaben war leider nicht möglich, weil die Arbeit in einem Feldlazarett niedergeschrieben wurde. Etwaige Fehler in den Angaben bitte ich damit zu entschuldigen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über einen uteruswirksamen Stoff im Harn und seine Beziehung zu Oxytocin und Vasopressin*.

Von

Hans Eberhard Bundschuh.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. Mai 1940.)

Aus dem Hypophysenhinterlappen ließen sich bis jetzt Oxytocin und Vasopressin weitgehend getrennt darstellen. Die Einheitlichkeit dieser Substanzen, denen so verschiedene Wirkungen zugeschrieben werden, ist fraglich. Die Begriffe Oxytocin und Vasopressin sollen daher lediglich jene zwei Gruppen physiologischer Wirkungen des Hypophysenhinterlappens bezeichnen, die mit Hilfe einfacher physikalischer Methoden weitgehend trennbar sind, ohne Rücksicht darauf, ob sie stofflich einheitlich sind oder nicht. Auf diesen Wirkungen beruhen verschiedene biologische Methoden. Deren kritischer Betrachtung mag eine Darstellung der Bedeutung beider Prinzipien vorausgehen.

Wirkung des Vasopressins auf Wasser- und Kochsalzausscheidung.

Nur die letzten Erfahrungen mit dieser Substanz sollen hier besprochen werden. Larson (1) gelang der Nachweis der Zerstörung von Vasopressin durch Aminopolypeptidase, die besonders reichlich in Leber und Niere vorkommt. Simon (2) konnte im alkoholischen Auszug aus Oxalatblut und Oxalatplasma keine blutdrucksteigernde Wirkung feststellen. Seit den Versuchen von Starling und Verney am Herz-Lungen-Nieren-Präparat steht der renale Angriff des Vasopressins fest. Ein anderer als der Blutweg kommt kaum in Frage. Dazu konnte Heller (3) zeigen, daß das Vasopressin trotz der Adsorption an Blut (bis zu 10 Milli-E. Pituitrin pro ccm) unter physiologischen Bedingungen an die Niere gelangt, und Gilman und Goodman (4) fanden, zwar nicht im normalen Harn, so doch in dem durstender und solcher Ratten, die mittels Sonde eine Kochsalzlösung erhalten hatten, stets deutliche diureseverzögernde Wirkung. In gleicher Linie liegen Ergebnisse von Blazso (5), der im Hundeharn nach Reizung des Zentrums in 100 ccm etwa 10 Milli-E. des vasopressorischen und antidiuretischen Prinzips feststellte. Arnold (6) nimmt auf Grund seiner an Hunden erhobenen Befunde an, die im Harn unter bestimmten Bedingungen nachweisbare antidiuretische Substanz könne nicht vom

---

* D 11.

Hypophysenhinterlappen stammen und begründet seine Annahme damit, daß bei diesem Stoff die dem Vasopressin eigene Kochsalzmobilisierung fehlt und daß der hypophysektomierte Hund gleich dem normalen im Durstversuch antidiuretisch wirkende Substanz ausscheidet. Letztere Beobachtung ist sicher richtig, doch spricht sie keineswegs gegen das Vasopressin; hat doch schon 1928 Trendelenburg (7) darauf hingewiesen, daß beim normalen Hund das Tuber cinereum antidiuretischen und uteruswirksamen Stoff in geringer Menge enthält und dort nach Hypophysektomie „eine nicht unerhebliche Menge einer Substanz auftritt, die auf die Harnbereitung so einwirkt, wie der Hinterlappen der Hypophyse". Die Anschauung ist also nicht ernstlich erschüttert, daß die im Harn unter gewissen Bedingungen auftretende antidiuretische Substanz aus dem Hypophysenhinterlappen bzw. benachbarten Partien stammt. So muß weiter gefolgert werden, daß sie an Blut adsorbiert zur Niere gelangt und hier wirksam wird. Heller vermutete bereits, daß die Niere wahrscheinlich die Fähigkeit der Adsorptionsaufhebung besitzt. Diese oder eine andere Form der Aktivierung muß jedenfalls gefordert werden.

Wirkung des Oxytocins auf Wasser- und Kochsalzausscheidung.

Hierüber liegen nur wenige Arbeiten vor. Magnus und Schäfer (8) berichteten seinerzeit über die Diurese nach Injektion von Hypophysenhinterlappenextrakt, die jedoch ihre Erklärung in der Narkoseumkehr der Vasopressinwirkung fand. 1929 arbeitete Draper (9) mit Präparaten, in denen Oxytocin bzw. Vasopressin angereichert waren. Das Oxytocinpräparat verursachte eine vielfach stärkere Diurese als das Vasopressinpräparat und er schloß daraus auf eine diuretisch wirkende Substanz, die dem Oxytocinpräparat entsprechend stärker beigemischt sein sollte. Erst 1937 wurde diese Frage durch Fraser (10) wieder aufgegriffen. Er fand, daß Postlobin-O (Stehlesches Oxytocinpräparat mit 2% Vasopressinbeimischung) eine Diurese zur Folge hat, die dem Oxytocin zukommen soll. Dieser Schluß wurde von Fraser gezogen, da ein auf andere Art hergestelltes Oxytocinpräparat (Pitocin) dieselbe Diurese verursachte. Er folgerte, daß die Vasopressinbestimmung nach der Rattendiuresemethode von Burn (11) auf Grund der diuretischen Wirkung des Oxytocins unbrauchbar werden müsse, sobald sich das Oxytocin-Vasopressin-Verhältnis des auszuwertenden Materials gegenüber dem des Standards ändere. Die Arbeit Frasers kann freilich nicht als Beweis dafür betrachtet werden, daß die Diurese nach Oxytocinpräparaten wirklich durch Oxytocin und nicht, wie Draper vermutete, durch eine dritte Substanz im Hypophysenhinterlappenextrakt verursacht wird; jedoch macht sie dies wahrscheinlich. Als weiterer Beleg für jene Ansicht mag die Tatsache gelten, daß das mit Hilfe des Adsorptionstrennungsverfahrens hergestellte Orasthin (12) desgleichen diuretisch wirkt (13). Die Kochsalzkonzentration des Harns fand Fraser gegenüber der des normalen nicht verändert. Daher ist die Ge-

samtausscheidung an NaCl, wie auch eigene Untersuchungen (13) ergaben, erheblich. Über das Vorkommen einer uteruswirksamen Substanz im Harn berichten Jones und Schlapp (14), die im Katzenurin pro ccm Mengen entsprechend 30—80 γ trockener Drüse feststellten.

Wenn dem Oxytocin, was aus den angeführten Gründen wahrscheinlich ist, eine diuretische Wirkung zukommt, so ist zu vermuten, daß es ähnlich dem Vasopressin unter gewissen Bedingungen nachweisbar wird. Es schien daher möglich, daß es im Harn gefunden werden konnte. In den Arbeiten der letzten Jahre über Hypophysenhinterlappenstoffe wurden als Maßstab der Wirkungsgröße die dem Vasopressin eigenen Eigenschaften bevorzugt zugrunde gelegt, selten wurde der oxytocische Faktor benutzt und meines Wissens nie ein gleichzeitiger Vergleich beider Bestimmungsmöglichkeiten zur Auswertung jener Stoffe durchgeführt. In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, Oxytocin und Vasopressin im Harn unter verschiedenen Bedingungen nachzuweisen, um bei ihrem Vorhandensein Aussagen über das Ausscheidungsverhältnis beider Substanzen machen zu können. Weiterhin waren aus dieser Feststellung eventuell neue Gesichtspunkte für die Diuresewirkung des Oxytocins zu gewinnen.

Methodik.

Für die Gewinnung vasopressinhaltigen Harns sind Angaben von Gilman und Goodman (4) vorhanden, die antidiuretische Wirkung im essigsauren Harn von Ratten nach peroraler Gabe einer 5%igen NaCl-Lösung — 5 ccm pro 100 g Ratte — feststellten. Der ohne besondere Maßnahmen zur Verhütung der Berührung mit Faeces nach Sondieren mit NaCl-Lösung gewonnene Harn war stets mehr oder weniger durch Faeces verunreinigt. Die Tiere wurden daher in späteren Versuchen für die Zeit der Harngewinnung in ganz engen Drahtkäfigen gehalten und der Urin in Reagensgläsern mit wenig 4%iger Essigsäure aufgefangen. Er kam nur mit Glas in Berührung und war völlig faecesfrei. Der erhaltene Harn wurde in Cellophanschläuchen* gegen fließendes Leitungswasser bis zur geringen Trübung durch $AgNO_3$ dialysiert (2—3 Stunden) und zu passender Menge bei etwa 35° eingeengt. Die Kochsalzkonzentration des eingeengten Harns betrug weniger als 10 mg pro ccm. Da die Hypophysenhinterlappenstoffe in essigsaurer Lösung bei einem p_H von 3—4 am längsten wirksam bleiben, wurde dieses p_H durch Hinzufügen 4%iger Essigsäure eingehalten. Dasselbe p_H hatte die Hypophysinstandardlösung, die aus dem Hypophysin-Bayer des Handels (1,0 ccm = 3 V. E.) bereitet wurde. Zum Nachweis wirksamer Stoffe im normalen Harn von Männern wurde dieser in 10%iger Essigsäure — etwa 50 ccm pro Liter — aufgefangen, mit Tierkohle ausgeschüttelt und diese mit Eisessig oder verdünntem Ammoniak eluiert. Nach Einstellen eines p_H von 3—4, Dialysieren in Cellophan-

* Kalle & Co., Wiesbaden-Biebrich. Kaliber etwa 1 cm, Porenweite unter 10 Millimikron.

schläuchen und Einengen im Vakuum bei etwa 50° wurde das Material ausgewertet. Die Auswertung der antidiuretischen Komponente erfolgte mit der von Burn angegebenen Rattendiuresemethode, beim faecesfreien Urin und bei der Hypophysinfaecesaufschwemmung in Kombination mit der von Marx (15) ausgebauten Chloridmethode. Die Chloridbestimmung wurde am 3 Stunden- und 24 Stunden-Harn vom Beginn des Sondierens an gerechnet vorgenommen. Die Tiere wurden mit einem Mischfutter aus Körnern unter Zusatz von Krabben gefüttert. Für den uteruswirksamen Anteil liefert die Auswertung an Stücken vom Schafuterus nach Trendelenburg brauchbare, der Diuresemethode gleichwertige Ergebnisse, wenn der Durchschnitt mehrerer Werte verschiedener Uteri genommen wird. Als Bestätigung der Richtigkeit diente auch die Feststellung gleicher wirksamer Mengen an Uterusstücken in so verschiedenen Badvolumina wie 2,3 und 25,0 ccm Tyrodebad. Der Schafuterus hat vor anderen den Vorteil geringer Empfindlichkeit gegen äußere Einflüsse. Er ist eine Woche und länger haltbar, wenn er in zu feinen Körnchen zerkleinerter gefrorener Tyrodelösung vom Schlachthof geholt und im Eisschrank aufbewahrt wird. Die Prüfung in Frage kommender störender Substanzen am Uterus ergab bei Salzen ($Na \cdot OOC \cdot CH_3$; NaCl) in größerer Konzentration Erschlaffung des Uterus, der meist eine Kontraktion folgte. Da freie Essigsäure eine Uteruskontraktion ähnlich der nach Hypophysin zur Folge hat, wurden Uteri nicht benutzt, wenn sie bereits bei Zusatz von Essigsäurelösung mit p_H 3—4 in Mengen, die dem auszuwertenden Material entsprachen, erheblich reagierten. Die Mengen des zugesetzten Testmaterials und der Standardlösung wurden möglichst gleichgehalten.

Die angewandten Handelspräparate Hypophysin und Orasthin enthalten nach Mitteilungen der Firma Bayer Chloreton. Da die Konzentration nicht bekannt ist, wurde für die Berechnung der Dosis die Annahme zugrunde gelegt, daß es sich bei den Präparaten um eine gesättigte Chloretonlösung handelt (etwa 0,45%). 500 Milli-E. Orasthin oder Hypophysin würden dann 0,75 mg Chloreton enthalten. Diese Dosis hat keinerlei Effekt, weder auf die Diurese noch Antidiurese noch auf die Chloridausschüttung; ebensowenig wirkt sie auf den Schafuterus.

Grundlagen der Burnschen Diurese- und der Marxschen Chloridmethode.

Beide Methoden benutzen Eigenschaften des Vasopressins. Burn setzt die diureseverzögernde Wirkung des zu bestimmenden Materials mit der des Hypophysenhinterlappenstandards in Beziehung. Als Maßstab dient die Zeit der mittleren Ausscheidung (Z.d.m.A.), die durch viertelstündliches Messen des von 4 Ratten ausgeschiedenen Harns gewonnen wird und die Zeit vom Beginn bis zum Höhepunkt der Diurese darstellt. Diese Methode setzt voraus, daß andere Stoffe im auszutestenden Material wie im Standard keine Wirkung auf die Diurese besitzen oder aber stets im

gleichen Verhältnis vorkommen. Ähnlich verhält es sich mit der von Marx angegebenen Chloridmethode. Sie benutzt das Steigen der Kochsalzkonzentration im Urin nach Vasopressin und setzt gleichfalls voraus, daß andere Stoffe diese Wirkung weder schwächen noch verstärken oder doch in Testmaterial und Standard im gleichen Maße wirksam sind. Diese Bedingungen wurden einer Prüfung unterzogen, die um so nötiger schien, als neuerdings gewisse Wirkungen des Oxytocins auf Wasser und Kochsalzausscheidung bekanntgeworden sind. Diese konnten die Anwendung jener Methoden bei Änderung des Oxytocin-Vasopressin-Verhältnisses im Testmaterial gegenüber dem im Standard in Frage stellen. Es lag daher nahe, gewisse Verunreinigungen in ihrer Bedeutung für Oxytocin und Vasopressin zu untersuchen. Die häufigste Verunreinigung von Harn ist die durch Faeces. Besonders bei der Gewinnung von Rattenharn ist sie schwer zu vermeiden. Es zeigte sich, daß bei der Beurteilung von Hypophysenhinterlappenstoffen im Harn eine etwaige Verunreinigung durch Faeces beachtet werden muß; denn Vasopressin wird durch sie leichter inaktiviert als Oxytocin und so das Oxytocin-Vasopressin-Verhältnis gestört. Die verschieden starke Inaktivierung beider Prinzipien durch Rattenfaeces ließ sich sowohl im Rattenharn als auch am Hypophysenhinterlappenextrakt darstellen (Tabellen 1 und 3 und Abb. 1 und 2).

Versuchsergebnisse.

Schwankungen der Burn-Diurese-Werte.

In unserem Institut waren in einer großen Zahl von Versuchen die Zeiten der mittleren Ausscheidung (Z.d.m.A.) festgestellt worden, und zwar als Leerwerte und als Werte für 4, 6 und 12 Milli-E. Hypophysin. Bei der Mehrzahl der späteren Auswertungsversuche wurden zwei Rattenkontrollgruppen — eine Leergruppe und eine mit Standard — neben denen mit Auswertungsmaterial gehalten. Es zeigte sich übereinstimmend bei drei Untersuchern, die gleichzeitig am Institut mit jeweils eigenem Tiermaterial vom Herbst 1937 bis Herbst 1938 arbeiteten, eine anscheinend jahreszeitlich bedingte Schwankung der Leer- und Standardwerte, so daß im Sommer und Herbst die längeren, im Winter und Frühjahr die kürzeren Zeiten auftraten.

Fällung der wirksamen Stoffe.

Der Versuch einer Abtrennung der wirksamen Stoffe aus dem Harn mit Hilfe einer Pikrat- oder Tanninfällung brachte eine zu geringe — etwa 15% — Ausbeute, so daß auf sie verzichtet wurde.

Faecesfreier Harn.

Der völlig faecesfrei aufgefangene, nach Sondieren mit 5%iger NaCl-Lösung gewonnene Harn männlicher Ratten hatte in Übereinstimmung

Tabelle 1. Nicht faecesfreier Urin von Ratten nach Kochsalzgabe. Die Verunreinigung des Harns mit Rattenfaeces beseitigt die antidiuretische Wirkung fast völlig. Die Uteruswirksamkeit bleibt erhalten.

Versuchs-Nr.	Zeit des Auffangens des Harns nach NaCl-Gabe; injizierter Standard in Milli-E.*	Urin eingeengt auf Anteile des ursprünglichen Volumens	Diureseversuch nach Burn: Injektion pro Ratte	Diureseversuch nach Burn: 4 Ratten Gesamtgewicht	Diureseversuch nach Burn: Ausgeschiedene Urinmenge	Diureseversuch nach Burn: Zeit der mittleren Ausscheidung	Antidiuretische Wirksamkeit pro Ratte und Std.	Uteruswirksamkeit pro Ratte und Std.
		ccm	ccm	g	ccm	Min.	Milli-E.	Milli-E.
	I. Nicht faecesfreier Urin:							
14	1.—4. Std. Urin von 16 Ratten Leer: 76 Min.	140/14,0	0,5	670	27,0	77	0	
			0,5	665	26,0	81		
			0,5	650	25,7	60		
			0,5	640	18,5	83		
	16 Ratten							
15	5.—17. Std.	150/15,0	0,5	680	1,2	in 6 Std. ausgeschieden	?	
			0,5	660	0.9			
			0,5	670	2,1			
			0,5	680	1,6			
	16 Ratten							
17	1. Std.	32,2/2,5	0,5	680	21,2	76	0	
	2. „	42/2,8	0,5	680	23,7	76		
	3. „	32,7/2,5	0,5	670	23,7	68		
	4. „	28,9/2,5	0,5	700	16,1	76		
	5. „	18,3/2,5	0,5	705	19,5	66		
	6. „	14,7/2,5	0,5	680	21,0	74		
	7.—19. Std.	64/6,4	0,5	630	19,2	99		
	16 Ratten							
18	3. und 4. Std.	68,5/6,9	0,5	700	23,0	98	0,9	
	3. „ 4. „	68,5/6,9	0,5	700	21,2	90		
	5. „ 6. „	42,1/4,2	0,5	675	21,9	111	1,0	
	5. „ 6. „	42,1/4,2	0,5	675	20,7	111		
	7. „ 8. „	25,3/2,5	0,5	670	19,4	111	3,1	
	Leer: 64, 65, 76 Min.							
	16 Ratten							
19	3. und 4. Std.	80,5/8,0	0,5	680	26,0	62	0	
	3. „ 4. „	80,5/8,0	0,5	700	17,1	76		
	5. „ 6. „	43,8/4,4	0,5	705	23,7	89	0	
	20 Ratten							
20	1. und 2. Std.	91,4/9,1	0,5	660	22,4	93	0	1,1
	3. „ 4. „	108,6/10,9	0,5	780	17,0	110	0	
	3. „ 4. „	108,6/10,9	0,5	705	20,3	92		
	5. „ 6. „	68,7/6,9	0,5	650	15,4	97	0	
	5. „ 6. „	68,7/6,9	0,5	700	20,6	120		
	7. „ 8. „	29,8/3,0	0,5	665	20,0	110	0	1,9
	9.—23. Std.	64,2/6,4	0,5	710	23,0	109	0	
	Leer:			740	26,6	93		

* Eine Millieinheit = 0,001 Einheit.

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Versuchs-Nr.	Zeit des Auffangens des Harns nach NaCl-Gabe; injizierter Standard in Milli-E.*	Urin eingeengt auf Anteile des ursprünglichen Volumens	Diureseversuch nach Burn: Injektion pro Ratte	Diureseversuch nach Burn: 4 Ratten Gesamtgewicht	Diureseversuch nach Burn: Ausgeschiedene Urinmenge	Diureseversuch nach Burn: Zeit der mittleren Ausscheidung	Antidiuretische Wirksamkeit pro Ratte und Std.	Uteruswirksamkeit pro Ratte und Std.
		ccm	ccm	g	ccm	Min.	Milli-E.	Milli-E.
			20 Ratten					
21	1. und 2. Std.	116/12,0	0,5	730	20,3	70	0	3,0
	1. „ 2. „	116/12,0	0,5	780	15,1	91		
	3. „ 4. „	119/12,0	0,5	705	14,1	74	0	4,8
	5. „ 6. „	58,6/5,8	0,5	700	17,6	73	0	4,4
	5. „ 6. „	58,6/5,8	0,5	660	19,5	78		
	7. „ 8. „	26,5/6,5	0,5	665	18,0	85	0	2,3
	9.—33. Std.	67,2/6,7	0,5	720	17,0	80	0	
	Leer:			660	19,6	65		
			20 Ratten					
22	1. und 2. Std.	126/12,6	0,5	650	19,3	80	0	
	5. „ 6. Std.	71/7,1	0,5	640	20,0	80	0	
	4 Milli-E. Hypophysin		0,5	710	19,5	110		
	Leer:		0,5	655	17,4	103		
			18 Ratten					
27	1.—4. Std.	139/14,0	0,5	920	22,4	99	0	5,3
	5.—8. „	94/9,0	0,5	940	21,4	104	0	1,4
	4 Milli-E. Hypophysin		0,5	940	24,4	117		
	Leer:		0,5	980	32,9	88		
			28 Ratten					
29/30	1.— 4. Std.	262/13,1	0,5	565	16,1	74	0	1,6
	1.— 4. „	262/13,1	0,5	565	9,9	101		
	1.— 4. „	315 24,0	0,5	625	7,0	103	0	
	5.— 8. „	136/6,9	0,5	565	11,1	67	0	0,8
	5.— 8. „	136/6,9	0,5	565	10,5	78		
	5.— 8. „	117/6,0	0,5	520	14,9	88	0	0,3
	9.—22. „	80/4,0	0,5	555	14,7	75	0	
	9.—29. „	104/5,0	0,5	575	9,2	170	0,9	0,1
	6 Milli-E. Hypophysin		0,5	538	17,8	187		
	4 „ „		0,5	574	16,4	155		
	Leer:		0,5	516	12,6	75		
			28 Ratten					
33	1.—4. Std. (U 57)	315/24,0	0,5	605	14,0	89	0	1,7
	6 Milli-E. Hypophysin		0,5	515	18,9	204		
	Leer:		0,5	575	21,3	81		

* Eine Millieinheit = 0,001 Einheit.

mit den Ergebnissen von Gilman und Goodman (4) regelmäßig deutliche antidiuretische Wirkung. Die Chloridbestimmung ergab bei nicht unbedeutenden Schwankungen von Versuch zu Versuch nicht immer gleichsinnige Befunde. Der Harn wurde am gleichen Tage und einige Zeit danach an Schafuteri ausgetestet. Diese Wertung erbrachte fast dieselben wirk-

samen Mengen wie die Rattendiuresemethode. Demnach scheinen die im Harn von Ratten bei Kochsalzdiurese ausgeschiedenen antidiuretischen

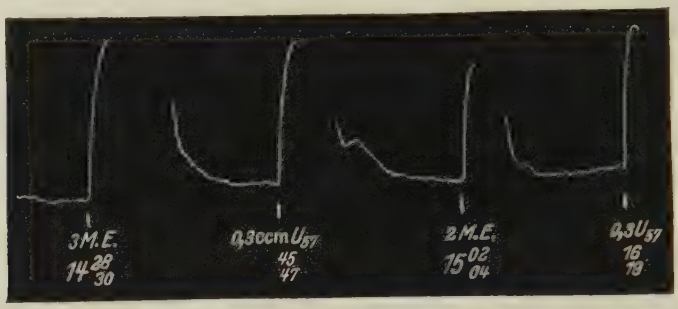


Abb. 1. U_{57}: Nicht faecesfreier Rattenurin, 1,0 ccm etwa 8 Milli-E. Untere Zahlenreihe: Zeit. — Keine antidiuretische Wirkung (siehe Tabelle 1).

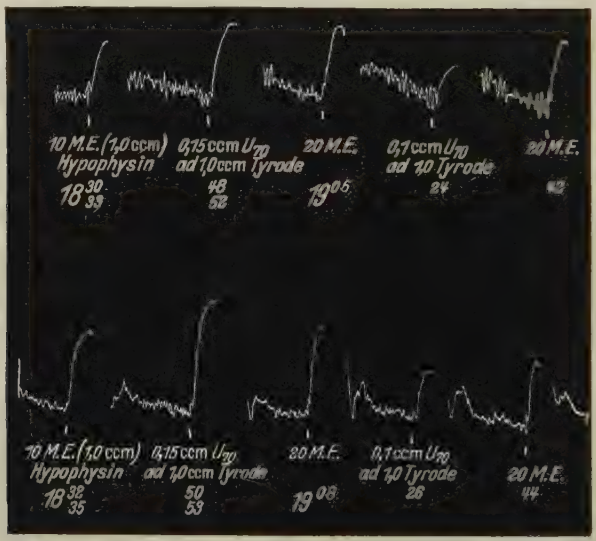


Abb. 2. U_{70}: 25 ccm Tyrode-Lösung mit 3 E. Hypophysin und 1 ccm Rattenfaeces bei p_H 3—4. 1,0 ccm etwa 120 Milli-E. Im Diureseversuch etwa 4 Milli-E. (siehe Tabelle 3).

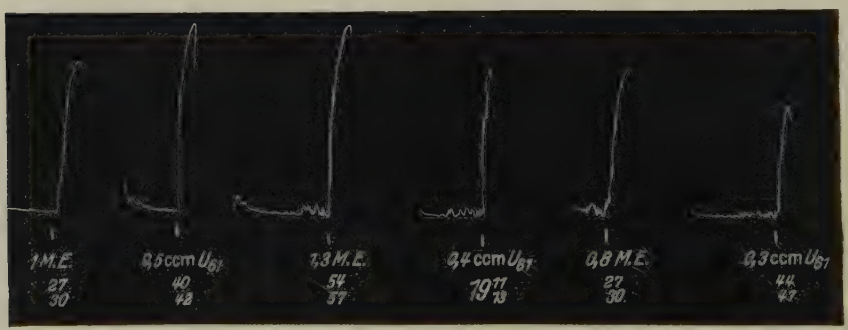


Abb. 3. U_{61}: Faecesfreier Rattenurin nach NaCl-Sondierung. Für den Uterus 3fach verdünnt, 1,0 ccm etwa 8 Milli-E. Der Diureseversuch zeigt denselben Wert (siehe Tabelle 2).

und uteruswirksamen Substanzen etwa dasselbe Verhältnis wie im Standard zu besitzen (Tabelle 2 und Abb. 3).

Faeceshaltiger Harn.

Es ist von Bedeutung, daß der Harn frei von Faeces bleibt; denn schon eine geringe Verunreinigung erschwert die Beurteilung des Gehalts an wirksamen Stoffen außerordentlich und führt zu unsicheren Resultaten. Das Vasopressin wird dabei offenbar leichter inaktiviert als das Oxytocin. Nach Sondieren mit hypertonischer Kochsalzlösung tritt eine starke Diarrhöe auf. Gelangen hierbei Faeces in den Urin, so besitzt dieser keine oder geringe antidiuretische, dagegen deutliche Uteruswirksamkeit (Tabelle 1 und Abb. 1).

Bedeutung des Histamins.

Diese Wirksamkeit des Harns am Uterus kann nicht auf Histamin zurückgeführt werden, da dies größtenteils bei der Dialyse abgetrennt wird. Eine gleich dem Urin dialysierte Histaminchloridlösung von 1 : 1000 hatte am Uterus einen bedeutend geringeren Effekt als der Urin, der zudem seine Wirksamkeit bei p_H 3—4 über lange Zeit behält.

Einfluß der Rattenfaeces auf Hypophysenhinterlappenextrakt.

Wenn es sich bei dem im Rattenharn durch Faeces inaktivierten antidiuretischen Stoff um Vasopressin handelte und bei dem weitgehend erhalten bleibenden uteruswirksamen um Oxytocin, so mußten sich gleiche Verhältnisse in einer Hypophysinfaecesaufschwemmung einstellen. Solche Hypophysinlösungen von 25,0 ccm mit 1—3 V.E. und 1—3 ccm Faeces in essigsaurer Lösung bei einem p_H von 3—4 erwiesen schon kurz nach der Herstellung den völligen oder fast völligen Verlust des antidiuretischen Anteils im Dialysierrückstand wie auch im Zentrifugat; dagegen war stets deutliche Uteruswirksamkeit vorhanden. Manchmal ließ sich das Oxytocin bis zu 100 % nachweisen. Faecesaufschwemmung von p_H 3—4 ohne Hypophysinzusatz hatte keinerlei Wirkung. Da bei gekochten und nicht gekochten Faeces der Effekt derselbe war, ist anzunehmen, daß das Vasopressin adsorbiert wird (Tabelle 3 und Abb. 2).

Beispiel der Berechnung zu Tabelle 2.

8 Ratten schieden in 4 Stunden 43,0 ccm Harn aus, der auf 5,0 ccm eingeengt wurde. Nach dem Diureseversuch enthalten 0,5 ccm des Eingeengten 5 Milli-E. antidiuretischer Substanz, das gesamte Eingeengte also 50 Milli-E.; pro Ratte und Stunde ergeben sich $\frac{50}{8 \cdot 4} = 1{,}6$ Milli-E. antidiuretischer Substanz.

Normaler Harn.

Gilman und Goodman fanden im normalen Rattenharn keine antidiuretisch wirkende Substanz. Dieser Befund wurde bestätigt. Es wurde vermutet, daß das uteruswirksame Prinzip sich ähnlich verhalten würde.

Tabelle 2. Faecesfreier Urin von Ratten nach Kochsalzgabe.
Der Harn enthält in etwa gleichem Maße antidiuretisch und oxytocisch wirkende Substanz.

Versuchs-Nr.	Zeit des Auffangens des Harns nach NaCl-Gabe; injizierter Standard in Milli-E.	Urin eingeengt auf Anteile des ursprünglichen Volumens	Injektion pro Ratte		Diureseversuch nach Burn: 4 Ratten Gesamtgewicht	Ausgeschiedene Urinmenge	Zeit der mittleren Ausscheidung	mg NaCl: nach 3 Std.		nach 24 Std.		Antidiuretische Wirksamkeit pro Ratte und Stunde	Uteruswirksamkeit pro Ratte und Stunde
		ccm	ccm	Milli-E.	g	ccm	Min.	pro ccm	absolut	pro ccm	absolut	Milli-E.	Milli-E.
	II. Faecesfreier Urin:												
	8 Ratten												
35	1.—4. Std. (U 61)	43/5,0	0,5		685	13,7	166	2,1	15,1	3,7	46,2	1,6	2
	1.—4. „		0,3		700	14,0	144	1,5	16,4	2,2	18,0		
	Hypophysin			6	690	20,0	172	3,9	45,6	2,3	29,9		
	„			6	665	29,9	182	4,0	56,8	3,7	105,4		
	„			4	675	28,6	153	3,7	63,2	2,9	42,3		
	„			4	650	22,6	164	2,5	38,2	1,4	12,2		
				0*	740	17,5	111	0,7	10,7	1,6	10,4		
	7 Ratten												
36	1.—8. Std. (U 65)	72/9,0	0,8		610	20,8	169	1,51	22,8	3,74	36,8	1,6	1,6
	1.—8. Std.		0,4		610	21,5	116	1,31	24,0	4,09	26,2		
	Hypophysin			6	620	23,3	130	2,69	50,0	3,51	35,5		
				0	595	18,9	94	2,04	33,0	4,33	38,6		
	7 Ratten												
37	1.—4. Std. (U 72)	72/13,1	1,0		600	8,2	152	1,06	7,0	5,85	57,9	2,3	
	1.—4. „		0,5		675	16,1	118	1,46	19,0	6,14	92,6		
	5.—8. „ (U 73)	36/6,0	0,5		660	14,4	165	4,41	44,8	5,15	70,0	2,1	
	5.—8. „		0,3		665	12,0	147	0,94	6,1	6,05	60,5		
	Hypophysin			6	635	21,7	181	2,22	20,2	2,50	45,0		
				0	630	27,4	90	2,71	55,3	3,45	51,7		
	5 Ratten												
38	1.—14. Std. normaler	16/10,0	1,0		870	23,1	89	2,1	48,5	1,5	22,5	0	1,4
	Urin (U 77)		0,5		870	23,4	113	2,0	39,4	2,1	27,9		
	Hypophysin			6	875	23,1	170	5,3	70,0	2,1	29,8		
				0	860	22,2	103	1,7	34,3	1,4	16,1		

0 = 0,5 ccm physiologische Kochsalzlösung.

Tabelle 3. Hypophysinfaecesaufschwemmung.

Die antidiuretische Wirkung des Hypophysins ist fast völlig beseitigt. Die Uteruswirksamkeit bleibt zu einem erheblichen Teil erhalten.

Versuchs-Nr.	Zeit des Auffangens des Harns nach Na Cl-Gabe; injizierter Standard in Milli-E.	Injektion pro Ratte		Diureseversuch nach Burn: 4 Ratten Gesamtgewicht	Ausgeschiedene Urinmenge	Zeit der mittleren Ausscheidung	mg NaCl nach 3 Std.		mg NaCl nach 24 Std.		Antidiuretische Wirksamkeit pro 1,0 ccm	Uteruswirksamkeit pro 1,0 ccm
		ccm	Milli-E.	g	ccm	Min.	pro ccm	absolut	pro ccm	absolut	Milli-E.	Milli-E.
	III. Hypophysinfaecesaufschwemmung											
36 A	25,0 ccm mit 1 V. E. (U 66) und 3 ccm Rattenfaeces p_H 3—4	0,1	4	630	25,2	76	1,99	45,6	5,11	37,4	0	10
		0,2	8	595	22,4	99	1,90	34,4	3,04	26,2		
		0,4	16	590	26,7	73	2,05	49,8	4,27	35,4		
		1,0	40	570	20,7	96	2,17	33,6	2,03	28,7		
	Hypophysin		6	620	23,3	130	2,69	50,0	3,51	35,5		
	0,5 ccm Faecesaufschwemmung			590	18,9	94	2,04	33,0	4,33	38,6		
37 A	25,0 ccm mit 3 V. E. und 1 ccm Rattenfaeces											
	1 ccm p_H 3,5 (U 69)	0,3	36	700	33,4	96	2,72	82,2	3,24	43,7	0	
	1 „ p_H 3,5 (U 69)	0,5	60	695	30,9	149	3,66	74,0	2,11	24,3	8	
	1 „ p_H 3,5 (U 70)	0,3	36	680	35,1	114	2,61	83,7	1,27	15,3	4	120
	1 „ p_H 3,5 (U 70)	0,5	60	640	28,4	132	2,79	70,9	2,05	27,2	6	120
	1 „ p_H 5,5 (U 71)	0,3	36	570	11,0	86	1,46	14,8	4,23	46,5	0	60
	1 „ p_H 5,5 (U 71)	0,5	60	685	22,1	78	1,63	34,2	6,37	57,3	0	60
	Hypophysin		6	635	21,7	181	2,22	20,2	2,50	45,0		
	0,5 ccm Faecesaufschwemmung			630	27,4	90	2,71	55,3	3,45	51,7		

Die Auswertung normalen Urins männlicher Ratten ergab jedoch eine erhebliche Menge uteruswirksamen Stoffes. Er fand sich sowohl in völlig faecesfreiem wie auch in faeceshaltigem Harn (Tabelle 2 und Abb. 4).

Desgleichen erwies sich der Harn von Männern als uteruswirksam. Es sind mit dem Adsorptionsverfahren in normalem Harn pro Liter mehrere 100 Milli-E. uteruswirksamer Substanz nachweisbar. Wahrscheinlich enthält er jedoch mehr, da nicht anzunehmen ist, daß die angewandten Darstellungsbedingungen erschöpfend sind.

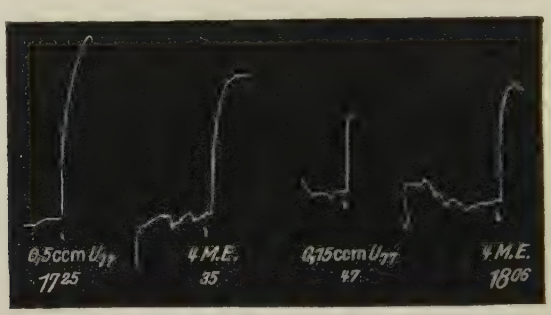


Abb. 4. U_{77}: Normaler faecesfreier Rattenurin, 1,0 ccm etwa 10 Milli-E. Keine antidiuretische Wirkung (siehe Tabelle 2).

Verhältnis der uteruswirksamen und der antidiuretischen Substanz im Harn von Ratten.

Das Oxytocin ließ sich zwar in einer Hypophysinfaecesaufschwemmung bis zu 100% nachweisen; gelegentlich war der Prozentsatz bei gleichen äußeren Bedingungen jedoch bedeutend geringer, ohne daß der Grund dafür angegeben werden kann. Diese Tatsache läßt Schlüsse über den quantitativen Gehalt an wirksamer Substanz nicht zu, sofern der Urin nicht faecesfrei ist. Andererseits stößt die Gewinnung faecesfreien Rattenurins in größerer Menge auf erhebliche Schwierigkeiten. Dazu kommt der schwer abschätzbare Verlust, der durch Dialyse, Einengen und Stehenlassen des Harns bis zur Auswertung entsteht und der mehr als 50% betragen kann. Die angegebenen Werte für die Mengen uteruswirksamer und antidiuretischer Substanz haben daher beschränkte quantitative Bedeutung und geben lediglich im faecesfreien Urin über das Verhältnis beider Prinzipien Aufschluß. Dieses stellt sich so, daß stets Uteruswirksamkeit nachweisbar ist, und zwar etwa gleich viel in normalem Rattenharn und in solchem nach Gabe einer 5%igen NaCl-Lösung. Die Menge beträgt pro Ratte und Stunde etwa 1,6 Milli-E. Der Harn nach Kochsalzgabe enthält etwa die gleiche Menge Vasopressin, doch fehlt dieses im normalen Harn (Tabelle 2).

Eigenschaften der im Harn von Ratten nachweisbaren uteruswirksamen Substanz.

Dieser uteruswirksame Stoff zeigt weitgehende Übereinstimmung mit den Eigenschaften des Oxytocins. So ist er in essigsaurer Lösung bei

p_H 3—4 besser haltbar als bei höherem p_H. Zweistündiges Kochen bei p_H 4—5 hat einen Wirkungsverlust von etwa 60% zur Folge. Er ist nach Filtrieren mit Filtrierpapier vermindert und in essigsaurer Lösung an Tierkohle adsorbierbar. Gleich dem Oxytocin passiert er Cellophanschläuche (s. oben) bei der Dialyse gegen Leitungswasser innerhalb von 1—3 Stunden in kaum nachweisbarer Menge. Er wird bei p_H 3—4 weniger von Rattenfaeces inaktiviert als Vasopressin. Es ist daher wahrscheinlich, daß es sich tatsächlich um Oxytocin handelt.

Besprechung der Ergebnisse.

Im Harn von Ratten läßt sich ein uteruswirksamer Stoff nachweisen, dessen bisher untersuchte Eigenschaften mit denen des Oxytocins parallel gehen. Seine Identität mit letzterem ist damit freilich nicht bewiesen. Zweifellos besitzt das Oxytocin eine Diuresewirkung. Ihre physiologische Bedeutung muß durch den Nachweis von Oxytocin im Harn unter verschiedenen Bedingungen unterstrichen werden, besonders in Hinsicht auf die zu folgernde antagonistische Wirkung gegenüber dem Vasopressin. Die Bestimmung des Verhältnisses beider Prinzipien im Harn, ihr Vorkommen bzw. Fehlen bei Veränderungen im Wasserhaushalt läßt Überlegungen in bezug auf ihr Verhältnis im Blute zu. Das Vasopressin hat bereits bei 2 Milli-E. pro 100 g Ratte einen auswertbaren antidiuretischen Effekt. Dagegen ist die Oxytocindiurese erst beim Mehrfachen dieser Dosis feststellbar. Da allgemein angenommen wird, daß die angewandten Herstellungsverfahren des Hypophysenhinterlappenstandards das Verhältnis beider Stoffe gegenüber dem in der Drüse nicht verändern, ist zu folgern, daß das Vasopressin in der Wirkung auf die Niere überwiegt. Das Hervortreten der Wirkung des Vasopressins könnte auf seiner größeren Menge beruhen oder aber auf seiner stärkeren Wirksamkeit. Im ersten Falle müßte der Gehalt an Vasopressin im Blute größer sein als der an Oxytocin, im zweiten könnte der Gehalt beider gleich groß oder der an Vasopressin sogar kleiner sein. Im normalen Harn läßt sich nun — immer vorausgesetzt, daß der nachgewiesene uteruswirksame Stoff Oxytocin ist — lediglich Oxytocin nachweisen, dagegen zeigt der Harn nach Kochsalzgabe beide Substanzen ungefähr im Standardverhältnis. Dieser Unterschied könnte beim normalen Harn auf stärkerer Inaktivierung des Vasopressins, etwa durch Aminopolypeptidase beruhen, die in der Niere besonders reichlich vorhanden ist. Durst oder Kochsalzgabe müßten dann diese Funktion verändern. Andererseits ist denkbar, daß der Gehalt an Vasopressin normalerweise kleiner ist als der an Oxytocin, so daß das Vasopressin nicht in auswertbarer Menge in den Harn gelangt. Erst bei Steigen der Vasopressinkonzentration im Blute nach längerem Dursten oder nach Kochsalzgabe würde es dann reichlicher im Harn erscheinen. Die eigenen Erfahrungen bestätigen den Einwand Frasers, der auf die Verfälschung der Rattendiuresemethode durch Änderung des Oxytocin-Vasopressin-

Verhältnisses aufmerksam machte. Die Vasopressinwirkung an der Niere beschränkt sich auf eine Kochsalzausschüttung bei Wassereinsparung. Demgegenüber verursacht Oxytocin, wie bereits in einer früheren Arbeit (13) mitgeteilt wurde, die vermehrte Exkretion eines Harns, der etwa die Kochsalzkonzentration des normalen besitzt. Bei beiden ist die absolute Kochsalzausscheidung erheblich. Die Burnsche Rattendiurese- und die Marxsche Chloridmethode gelten als Vasopressinbestimmungsmethoden. Tatsächlich trifft dies jedoch für keine der beiden Methoden zu. Die Diuresemethode gibt durch die auch für das Oxytocin bestehende Wirkung auf den Wasserhaushalt den Effekt beider Hypophysenhinterlappenstoffe wieder. Bei Änderung des Oxytocin-Vasopressin-Verhältnisses im auszutestenden Material gegenüber dem im Hypophysenhinterlappenstandard muß die Diuresemethode somit zu unrichtigen Ergebnissen führen, wenn man meint, durch sie Werte für das antidiuretische Prinzip zu gewinnen. Da die Diuresemethode die Zeit der mittleren Ausscheidung als Maßstab der Hypophysenhinterlappenwirkung zugrunde legt, gibt sie die Differenz der diuretischen Wirkung des Oxytocins und der antidiuretischen des Vasopressins wieder; denn beide Wirkungen fallen zeitlich zusammen. Die Marxsche Methode, die für die Bestimmung von Hypophysenhinterlappenstoffen die Chloridkonzentration benutzt, kann nur insoweit unrichtige Ergebnisse bieten, als das Oxytocin unter Umständen doch die Kochsalzkonzentration verändert. Diese wird zwar durch nicht zu hohe Dosen eines Oxytocinpräparats kaum beeinflußt, ist jedoch über das dem Vasopressin zukommende Maß erhöht, wenn Oxytocin und Vasopressin zugleich gegeben werden, sei es als Orasthin-Tonephin-Gemisch oder als Hypophysin (13). Daher sind auch für die Marxsche Methode beide Hypophysenhinterlappenstoffe von Bedeutung. Es würde so bei Ausschaltung aller weiteren Einflüsse für den extremen Fall des Verlustes eines der beiden Bestandteile folgender Zustand eintreten. Bei Verlust des Oxytocins und Erhaltenbleiben des Vasopressins müßte der Diureseversuch durch Fehlen der Ausscheidungsbeschleunigung des Oxytocins gegenüber dem Hypophysenhinterlappenstandard einen höheren Wert für die Zeit der mittleren Ausscheidung ergeben. Er würde mehr Vasopressin vermuten lassen als tatsächlich vorhanden ist. Dagegen würde die Chloridbestimmung die dem Vasopressin zukommende Erhöhung der Konzentration darstellen und einen zu niedrigen Vasopressinwert ergeben, da auch hier als Maßstab der Hypophysenhinterlappenstandard benutzt wird und dessen Oxytocin über das Vasopressin hinaus zur Wirkung gelangt. Andererseits hätte der Verlust des Vasopressins und das Erhaltenbleiben des Oxytocins im Diureseversuch eine Beschleunigung gegenüber dem Leerversuch zur Folge, während die Chloridkonzentration den dem Gehalt an Oxytocin entsprechenden Wert ergeben würde, der etwa in Höhe des Leerversuchs liegt. Die hohe absolute Chloridmenge bei reichlich ausgeschiedenem Harn würde auf die Anwesenheit von Oxytocin schließen lassen. Zu einer den Ver-

hältnissen besser entsprechenden Beurteilung der Ergebnisse der von Burn und Marx angegebenen Methoden zur Auswertung des Gehalts an antidiuretischer Substanz gelangt man also, wenn man in ihnen den Ausdruck der Gesamtwirkung beider Hypophysenhinterlappenstoffe, des Vasopressins und des Oxytocins, sieht.

Die Befunde dieser Arbeit bestätigen das regelmäßige Vorhandensein antidiureseerzeugender Substanz im Rattenharn nach Kochsalzgabe, wie es von Gilman und Goodman zuerst beschrieben wurde.

Gilman und Goodman fanden auch regelmäßig große Mengen Vasopressins im Harn durstender Ratten. Diese Ergebnisse konnten von O. Arnold bei Außerachtlassen etwaiger Verunreinigungen durch Faeces nicht reproduziert werden, vielmehr trat nur sehr unregelmäßig Antidiuresewirkung auf. Wie gezeigt werden konnte, besitzen Faecesbeimengungen für die Inaktivierung des Vasopressins eine erhebliche Bedeutung, so daß wohl hier ein Grund für die Unregelmäßigkeit der Arnoldschen Befunde liegen könnte. O. Arnold weist weiter darauf hin, daß auch dann, wenn die Diuresemethode nach Injektion von Durstharn eine starke Diureseverzögerung ergab, die sonst nach Hypophysenhinterlappenextrakt festzustellende Chloridausschüttung ausblieb. Dieser Befund sollte zusammen mit dem in seiner Bedeutung überwerteten und deshalb (vgl. oben S. 631 f.) zurückgewiesenen Nachweis antidiuretischen Stoffes im Harn eines hypophysektomierten Hundes zeigen, daß es sich bei der wirksamen Substanz nicht um eine solche des Hypophysenhinterlappens handeln könne. In Anbetracht der Schwankungen der Chloridausscheidung bei den Ratten sowohl von Tag zu Tag als auch innerhalb eines Versuchs kann die in eigenen Versuchen beobachtete Chloridvermehrung nicht als Argument gegen jenen Befund herangezogen werden, um so weniger, als das benutzte Krabbenmischfutter anscheinend keine hinreichend gleichbleibende Kochsalzzufuhr gewährleistete. Diese Frage müßte weitere Untersuchungen erfahren und dabei vor allem das Vasopressin-Oxytocin-Verhältnis des injizierten Materials beobachtet werden; spricht doch manches dafür, daß das Oxytocin im Gegensatz zum Vasopressin nach längerem Dursten oder einige Zeit nach einer Kochsalzgabe vermindert ausgeschieden wird und daher bei Injektion eines Durstharns der Diureseversuch mehr Vasopressin vermuten lassen könnte, als tatsächlich vorhanden ist. Die Marxsche Methode muß dann zu niedrige Werte ergeben.

Inwieweit die im Harn von Männern festgestellte Uteruswirksamkeit auf Oxytocin zurückzuführen ist, müßte noch untersucht werden.

Zusammenfassung.

1. Es wurden bei der Diuresemethode nach Burn wahrscheinlich jahreszeitlich bedingte Schwankungen der Werte für die Zeit der mittleren Ausscheidung beobachtet.

2. Faecesfrei bei p_H 3—4 aufgefangener Harn männlicher Ratten enthielt nach einer 5%igen NaCl-Lösung außer antidiuretischer auch uteruswirksame Substanz. Das Verhältnis beider entsprach etwa dem des Hypophysenstandards. Während der ersten 8 Stunden wurden etwa 0,0016 V.E. pro Ratte und Stunde ausgeschieden.

3. Derselbe Harn, jedoch mit Rattenfaeces verunreinigt, war lediglich uteruswirksam.

4. Desgleichen wurde das Vasopressin in einer Hypophysinfaecesaufschwemmung völlig oder fast völlig inaktiviert, wahrscheinlich durch Adsorption.

5. Normaler faecesfreier Rattenharn enthielt keine antidiuretische, dagegen deutlich uteruswirksame Substanz. Dieselbe ließ sich auch im Harn von Männern nachweisen.

6. Untersucht wurden eine Reihe von Eigenschaften des im Rattenharn nachgewiesenen uteruswirksamen Stoffes. Sie gingen mit denen des Oxytocins parallel.

7. Falls es sich tatsächlich um Oxytocin handelt, muß das Vorkommen dieses diureseerzeugenden Stoffes im Harn seine physiologische Bedeutung für die Nierenfunktion wahrscheinlich machen.

8. Die Anwesenheit von Vasopressin und Oxytocin im Harn erfordert Beachtung des Verhältnisses der wirksamen Stoffe bei deren Auswertung. Es wird erörtert, inwiefern die Burnsche Rattendiurese- und die Marxsche Chloridmethode bei Änderung des Verhältnisses jener Stoffe gegenüber ihrem Verhältnis im Standard voneinander abweichende Werte ergeben müssen.

Literatur.

1) Larson, E.: J. Pharmacol. (Am.) **62**, 3 (1938). — 2) Simon, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, S. 672. — 3) Heller: J. Physiol. (Brit.) **89**, 81 (1937). — 4) Gilman and Goodman: ebenda **90**, 113 (1937). — 5) Blazso, S.: Int. Phys. Kongr. II, S. 72. — 6) Arnold, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 360 (1938). — 7) Trendelenburg, P.: Klin. Wschr. **1928**, S. 1679. — 8) Magnus, R., u. E. A. Schäfer: J. Physiol. (Brit.) **27** (1901), Proc. IX. — 9) Draper, W. B.: Amer. J. Physiol. **89**, 273 (1929). — 10) Fraser, A. M.: J. Pharmacol. (Am.) **60** (1937). — 11) Burn, J. H.: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin, Julius Springer, 1937. — 12) Adsorptionstrennungsverfahren: DRP. 550935 (1929). — 13) Kuschinsky, G., u. H. E. Bundschuh: Klin. Wschr. **18**, 207, Nr. 6 (1939). — 14) Jones, A. M., u. W. Schlapp: J. Physiol. (Brit.) **87**, 144 (1936). — 15) Marx, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 526 (1933).

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Temmler-Werke, Berlin.

Zur Pharmakologie der Phenylalkylamine.

Von

F. Hauschild.

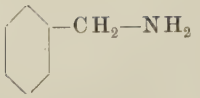
Mit 15 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. Juli 1940.)

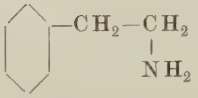
Während sich zahlreiche Untersuchungen seit Beginn der Adrenalinära und in noch verstärktem Maße seit der Einführung des Ephedrins in die Therapie mit der großen Gruppe der „sympathomimetischen" cyclischen Seitenkettenamine befaßten und durch die Untersuchungen Schaumanns (1) über Oxyephedrine die Brücke vom Ephedrin hinüber zum Adrenalin geschlagen wurde, fanden die ihnen zugrunde liegenden hydroxylfreien Amine weniger Beachtung. Es lag im Zuge der Zeit, daß seit den umfangreichen Untersuchungen von Barger und Dale (2) bei dieser Stoffklasse vor allem die periphere sympathomimetische Wirkung interessierte. Von dieser wußte man, daß sie immerhin am ausgeprägtesten unter den Phenylalkylaminen in dem Grundkörper der biogenen Amine, dem β-Phenyläthylamin, vorhanden war. In Analogie hierzu fand das dem Ephedrin zugrunde liegende Amin kaum irgendwelches Interesse. Hinzu kommt noch die Forderung von Barger und Dale, daß für intensive sympathomimetische Wirkungen das Vorhandensein von zwei phenolischen Hydroxylgruppen eine wesentliche Bedingung darstellt. So scheint es erklärlich, daß die hydroxylfreien Amine weniger Beachtung fanden und ihre Erforschung zum Teil erst in allerletzter Zeit einsetzte.

Der einfachste Typ eines Phenylalkylamins ist das den Toluidinen isomere Benzylamin. Während diesem keine wesentliche pharmakologische Bedeutung zukommt — das Capsaicin des Paprikas und spanischen Pfeffers ist ein Benzylaminderivat —, leiten sich von dem nächst höheren Homologen dieser Reihe, dem β-Phenyläthylamin, pharmakologisch hochwertige Derivate ab.

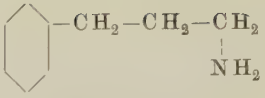
Barger und Dale prüften Vertreter dieser homologen Reihe und bezeichnen das β-Phenyläthylamin als wirksamsten Grundkörper.



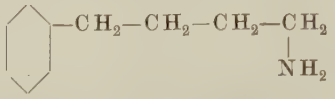
Benzylamin (schwach),



Phenyläthylamin (optimal),



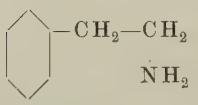
Phenylpropylamin (schwächer),



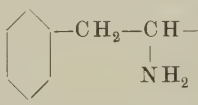
Phenylbutylamin (schwach).

Mit weiterer Verlängerung der Kette wird die sympathomimetische Wirksamkeit wieder geringer. Diese Erkenntnis führte zu der berechtigten Annahme, die „zweigliedrige" Kette des Phenyläthylamins als bevorzugt zu betrachten, während die glatte Verlängerung zum Propylamin und Butylamin Abschwächung brachte. In dieser oben angeführten homologen Reihe rückt die Aminogruppe jeweils von C zu C mit an das Ende der Kette, also vom C 1 bis zum C 4.

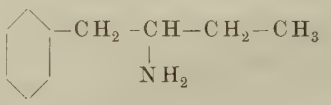
Andere pharmakologische Ergebnisse werden jedoch erhalten, wenn man die wesentlichen Eigenschaften von Körpern derjenigen homologen Reihe durchprüft, deren Charakteristikum die konstante Stellung der NH_2-Gruppe am C 2 (= β-C-Atom) darstellt:



1-Phenyl-2-amino-äthan (β-Phenyl-äthylamin),



1-Phenyl-2-amino-propan (β-Phenylisopropylamin),



1-Phenyl-2-amino-butan.

Es lassen sich nun weitere Reihen von Aminen ableiten, die sich durch Alkylierung am N auszeichnen, also die analogen sekundären und tertiären Amine vom Typus $C_6H_5C_nH_{2n} \cdot NRR'$, wobei R und R' Wasserstoff-, Methyl-, Äthyl-, Propylreste, aromatische Reste usw. darstellen können. Durch Einführung phenolischer oder alkoholischer Hydroxylgruppen ist dann die Verbindung geschaffen zu den bereits eingehend untersuchten Körpern der Adrenalin-Ephedrinreihe. Man wird in Analogie zu dem 1-Phenyl-2-amino-äthan, welches die Muttersubstanz der Adrenalinkörper (Adrenalin, Sympatol, Arterenol, Tyramin usw.) darstellt, das 1-Phenyl-2-amino-propan als Grundkörper der jetzt in der Therapie verwendeten kreislaufwirksamen Pharmaca (Ephedrin, Veritol, Suprifen, Pervitin usw.) anzusehen haben, sofern man nicht, worauf noch zurückzukommen sein wird, auch diese als Phenyläthylamin-Abkömmlinge betrachten will.

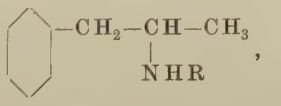
Die durchgeführten Untersuchungen Hand in Hand mit den bereits in der Literatur festgelegten Befunden werden es gestatten, die Zusammenhänge und Gesetzmäßigkeiten zwischen pharmakologischer Wirkung und chemischer Konstitution in dieser Stoffklasse weiter herauszuarbeiten.

Um eine gute Übersichtlichkeit zu gewährleisten, erfolgt die chemische Bezeichnung der abgehandelten Verbindungen nach der Genfer Nomenklatur und die Trivialnamen bzw. Gewohnheitsbezeichnungen werden nur eingangs und gelegentlich angeführt werden. Auf die Unterschiede zwischen einigen optischen Isomeren wird in einem gesonderten Abschnitt eingegangen. Wo nicht besonders vermerkt, handelt es sich bei den geprüften Körpern um die Racemate. Sämtliche Zahlenwerte, Dosierungsangabe usw., beziehen sich auf die freie Base; zur Prüfung wurden meist die Hydrochloride oder Sulfate der betreffenden Amine benutzt.

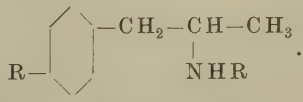
Die pharmakologische Prüfung erstreckte sich auf das jeweils interessierende Verhalten, so z. B. gegenüber Blutdruck, Herz, Atmung, Zentralnervensystem, glatter Muskulatur usw.

Als Standard wurde den vergleichenden Untersuchungen das β-Phenyläthylamin (1-Phenyl-2-amino-äthan) zugrunde gelegt und zunächst die höheren Homologen dieser Reihe vom Typus $C_6H_5C_nH_{2n} \cdot NH_2$ bis zur fünfgliedrigen Kette ($n = 5$) geprüft (siehe Formelbilder S. 648). Hierbei befindet sich die Aminogruppe am C_2 und der Phenylrest in C 1-Stellung (am β-C-Atom). Das 1-Phenyl-3-amino-butan wurde als Repräsentant einer C 3-ständigen Aminogruppe (γ-ständig) in die Prüfung einbezogen.

Weiterhin kamen die entsprechenden sekundären und tertiären Amine zur Prüfung. Insbesondere wurde den sekundären Aminen Beachtung zuteil, da ja gerade pharmakologisch wichtige Körper — nicht nur aus der Reihe dieser biogenen Amine — sekundäre Amine darstellen. Durch Einführung von Substituenten am Stickstoff wurde der Einfluß einer stärkeren Belastung der Aminogruppe auf das pharmakologische Verhalten geprüft. Hierbei ergaben sich zahlreiche Vergleichsmöglichkeiten mit entsprechenden und schon geprüften analogen Derivaten des β-Phenyläthylamins und Ephedrins. Es handelt sich um Körper vom Typus



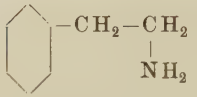
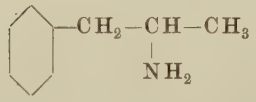
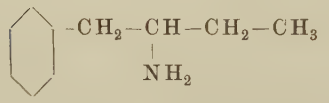
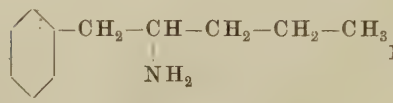
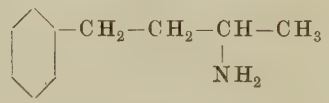
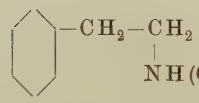
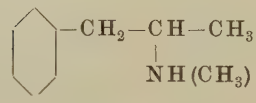
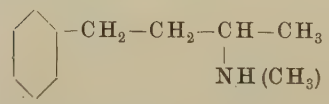
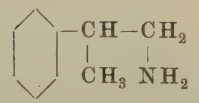
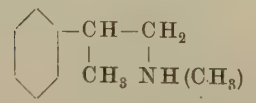
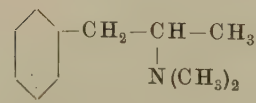
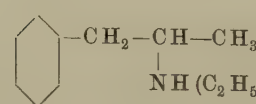
wobei R die verschiedensten aliphatischen und aromatischen Reste darstellen kann. Schließlich wurde der Einfluß der Einführung p-ständiger Amino- und Methoxygruppen (R′) und anderer Gruppen in den aromatischen Kern geprüft:



Die Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die chemische Struktur der geprüften Substanzen.

Es ist bekannt, daß sich von dem β-Phenyläthylamin eine Fülle hochwirksamer, physiologisch vielseitig aktiver Körper ableitet, und daß bereits in den so relativ einfach gebauten cyclischen Seitenkettenaminen die verschiedensten Grundwirkungen verborgen sind, die dann je nach

Tabelle 1. Verzeichnis der geprüften Substanzen mit Formeln*).

I.		β-Phenyläthylamin = 1-Phenyl-2-amino-äthan
II.		1-Phenyl-2-amino-propan (β-Phenylisopropylamin, Benzedrin)
III.		1-Phenyl-2-amino-butan (β-Phenyl-n-butyl-amin)
IV.		1-Phenyl-2-amino-pentan
V.		1-Phenyl-3-amino-butan (α-Methyl-γ-phenyl-n-propylamin)
VI.		1-Phenyl-2-methylamino-äthan (N-Methyl-β-phenyläthylamin)
VII.		1-Phenyl-2-methylamino-propan (N-Methyl-β-phenylisopropylamin)
VIII.		1-Phenyl-3-methylamino-butan
IX.		1-Phenyl-1-methyl-2-amino-äthan
X.		1-Phenyl-1-methyl-2-methylamino-äthan
XI.		1-Phenyl-2-dimethylamino-propan
XII.		1-Phenyl-2-äthylamino-propan

*) Die Substanzen wurden im chem. Laboratorium der Temmler-Werke hergestellt.

Tabelle 1. Fortsetzung.

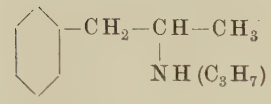
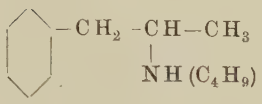
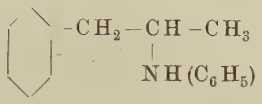
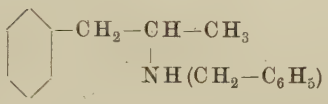
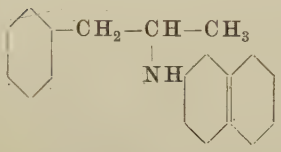
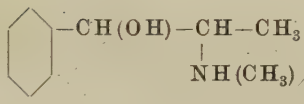
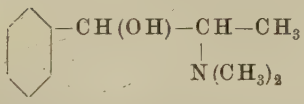
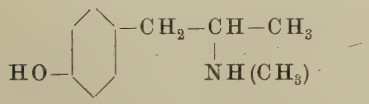
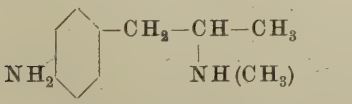
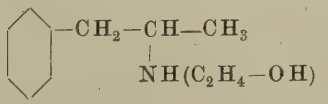
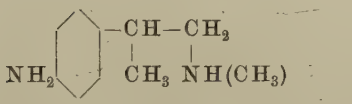
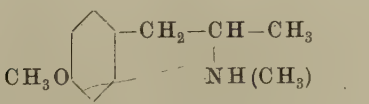
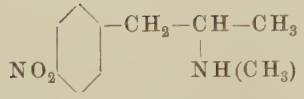
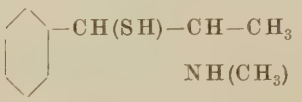
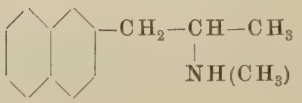
XIII.		1-Phenyl-2-n-propylamino-propan
XIV.		1-Phenyl-2-n-butylamino-propan
XV.		1-Phenyl-2-phenylamino-propan
XVI.		1-Phenyl-2-benzylamino-propan
XVII.		1-Phenyl-2-naphthylamino-propan
XVIII.		1-Phenyl-2-methylamino-propanol-(1) (Ephedrin)
XIX.		1-Phenyl-2-dimethylamino-propanol-(1) (= Methylephedrin)
XX.		1-(p-Oxyphenyl)-2-methylamino-propan (= Veritol)
XXI.		1-(p-Aminophenyl-2-methylamino-propan
XXII.		1-Phenyl-2-β-oxy-äthyl-amino-propan
XXIII.		1-(p-Aminophenyl)-1-methyl-2-methylamino-äthan
XXIV.		1-(p-Methoxyphenyl)-2-methyl-amino-propan

Tabelle 1. Fortsetzung.

XXV.		1-(p-Nitrophenyl)-2-methyl-amino-propan
XXVI.		1-Phenyl-1-thio-2-methylamino-propan (Thioephedrin)
XXVII.		1-Naphthyl-2-methylamino-propan

struktureller Abänderung mehr oder weniger spezifisch in den Vordergrund treten. Es sei in diesem Zusammenhang nur daran erinnert, daß wir diese Konfiguration nicht nur in dem Adrenalin, Ephedrin, Mescalin, Tyramin Hordenin u. a. wiederfinden, sondern daß, worauf Loewe (3) besonders hinwies, auch Alkaloide wie Strychnin, Morphin, Narkotin usw., in ihrem Formelbild die typische Phenyl-amino-propan-Struktur erkennen lassen, ganz abgesehen von den engen Beziehungen des β-Phenyläthylamins zu den Isochinolinen vom Typ des Papaverins, Hydrastinins usw.

Wenn somit die chemischen Zusammenhänge zwischen den einfach gebauten Phenylalkylaminen und den komplizierteren Isochinolinen recht eng sind, so scheinen auch in den Phenylalkylaminen die pharmakologischen Grundwirkungen all dieser Alkaloide und Wirkstoffe zumindest angedeutet zu sein. Wir finden bei den Phenylalkylaminen sowohl die bisher hauptsächlich beachteten sympathomimetischen Eigenschaften des Adrenalins wie auch die muskulär-spasmolytischen des Papaverins, die zentral-analeptischen des Ephedrins, wohl auch die cerebralen Wirkungen des Mescalins und depressive Wirkungen des Narkotins zumindest angedeutet vorhanden. Deshalb wird eine vergleichende Prüfung auf diese pharmakologischen Charakteristica vor allem zu achten haben.

Experimenteller Teil.

1. Wirkungsbild, Toxikologie, orale Wirksamkeit.

Das Vergiftungsbild an der Ratte gestattet bereits recht gute Möglichkeiten der Beurteilung der allgemeinen Wirkungsweise der geprüften Substanzen. Die Injektion der Lösungen erfolgte stets intraperitoneal, da nur so möglichst einheitliche Resorptionsbedingungen gewährleistet sind. Bei der Ermittlung toxischer und letaler Dosen per injectione sollte vor allem die Applikation in die Bauchhöhle angewendet werden, denn nicht immer ist der Untersucher über Lipoidlöslichkeit, osmotische Bedingungen, Temperatureinflüsse, p_H der Injektionslösung usw. orientiert, so daß hiermit erhebliche Möglichkeiten für schwankende Resorptionsverhältnisse gegeben

sind. Die gleichmäßigsten Bedingungen herrschen wohl immer im Peritonealraum. Bei der intravenösen Applikation sind Konzentration des Giftes oder Injektionsgeschwindigkeiten den wenig einheitlichen Gewohnheiten der Untersucher unterworfen; bei der subcutanen Injektion ist die Beschaffenheit und Durchblutung des Unterhautzellgewebes, seine Durchsetzung mit Fettpolster usw., gerade bei solchen Stoffen von Bedeutung, die sich durch Lipoidlöslichkeit auszeichnen, was auch für zahlreiche Salze der hier geprüften Amine zutrifft. Die orale Verabreichung der geprüften Substanzen erfolgte durch die Schlundsonde in den leeren Magen nüchterner Tiere. Das Gewicht der Ratten hielt sich in einem Bereich von 100—150 g.

a) Primäre Phenylalkylamine.

Barger und Dale zeigten in ihren klassischen Untersuchungen, daß mit Verlängerung der Seitenkette der Phenylalkylamine über die optimale C 2-Zahl hinaus eine Wirkungsminderung eintritt. Die zweigliedrige Kette erwies sich in bezug auf die von ihnen geprüften sympathomimetischen Symptome — Blutdrucksteigerung, Pupillenerweiterung, Tonushemmung usw. — als optimal. Eine Verkürzung dieser Kette zum Benzylamin oder gar Anilin hatte ebenso wie eine Verlängerung derselben zum Propylamin eine erhebliche Abschwächung der Wirkung zur Folge.

Die folgenden Untersuchungen werden zeigen, daß man neben diesen sympathomimetischen Symptomen auch noch den zentralen Wirkungen Beachtung zuteil werden lassen muß. G. Bry (4) hat bereits darauf hingewiesen, daß Amine vom Typus

wobei R ein beliebiges aliphatisches Radikal sein kann, bei Warmblütern Aufregungszustände, motorische Unruhe, Zittern, Zwangsbewegungen sowie eine beschleunigende Atemfrequenz hervorriefen; jedoch fanden diese Symptome weniger Beachtung gegenüber den Erscheinungen, welche auf eine Beeinflussung der sympathischen Nervenenden deuteten.

Das α-Phenyläthylamin, 1-Phenyl-1-amino-äthan, ist im Gegensatz zu dem β-Phenyläthylamin, also dem 1-Phenyl-2-amino-äthan, wenig wirksam. Schon Guggenheim und Löffler (5) wiesen auf die relative Ungiftigkeit auch dieses Amins bei Verabreichung per os hin.

Das Vergiftungsbild des 1-Phenyl-2-amino-äthans (I) ist bekannt und zeigt starke Ähnlichkeit mit dem des Benzylamins und Ephedrins: Protrusio bulbi, Salivation, Lacrimation, Zittern des Körpers, Unruhe, muskuläre Zuckungen, schließlich klonisch-tonische Krämpfe und Exitus nach einer kurzen Phase der Lähmung und Reflexlosigkeit. Das erste Symptom ist die Protrusio bulbi; deutlich erkennbare Unruhe beginnt bei Dosen von etwa $^1/_3$ bis $^1/_4$ der Letaldosis aufzutreten, welche 0,1 g/kg intraperitoneal beträgt.

Der Ablauf des Vergiftungsbildes bei den nächst höheren Homologen, dem 1-Phenyl-2-amino-propan (II) und -butan (III) ist demgegenüber abgeändert. Auch hier sind die ersten Erscheinungen eine Protrusio bulbi jedoch treten fast gleichzeitig deutliche Zeichen von Unruhe und Übererregbarkeit auf. Diese Phase des Vergiftungsbildes ist durchaus charakteristisch und bereits an anderer Stelle von F. Hauschild (6) bei der Prüfung des 1-Phenyl-2-methylamino-propans beschrieben: Manegetrieb, automatisierte Putzbewegungen, Jonglieren mit Futter und Hobelspänen, rhythmisch wiederkehrendes Nagen, Schnuppern usw. sind typisch.

Diese Erscheinungen werden bei dem 1-Phenyl-2-amino-äthan (I) nur in höchsten Dosen und weniger ausgeprägt beobachtet; sie scheinen bei der Ratte geradezu charakteristisch für diese zentralstimulierenden Wirkungen zu sein. Krämpfe werden bei der Intoxikation nur selten gesehen — im Gegensatz zu anderen Untersuchern (7) —, vielmehr erfolgt der Exitus nach einem Stadium höchster Übererregung in einem oft über Stunden anhaltenden Lähmungszustand. Die letale Dosis liegt mit 0,02 bis 0,025 g/kg für das 1-Phenyl-2-amino-propan (II) und 0,08 g/kg für das 1-Phenyl-2-amino-butan (III) erheblich unter der von I; die ersten Erregungserscheinungen stellen sich also für II bei 0,001 g/kg, für III bei 0,02 g/kg ein; sie sind also für II bereits bei etwa $^1/_{30}$ der äquieffektiven Dosis des 1-Phenyl-2-amino-äthans festzustellen.

Wenn sich also zeigte, daß in bezug auf Wirkungsbild wie auch auf Toxizität dem 1-Phenyl-2-amino-propan die stärkste Aktivität zukommt und diese bei der Butylverbindung wieder erheblich vermindert ist, so verhält sich das nächst höhere Homologe, das 1-Phenyl-2-amino-pentan (IV) in dieser Hinsicht weniger unterschiedlich; die letalen und toxischen Dosen liegen in der gleichen Größenordnung, jedoch treten bei dem Butylamin wie auch bei dem Pentylamin in höchsten Dosen tonisch-klonische Krämpfe auf. Das dem III isomere 1-Phenyl-3-amino-butan — mit der Aminogruppe in C 3-Stellung — ist weniger aktiv. Das Wirkungsbild ähnelt mehr dem des 1-Phenyl-2-amino-äthans als dem des 1-Phenyl-2-amino-propans. Die charakteristischen Erregungserscheinungen treten kaum hervor; langanhaltende tonisch-klonische Krämpfe stehen im Vordergrund. Die Letaldosis liegt höher.

Die Ermittlung der tödlichen Dosis bei oraler Verabreichung gab beachtliche Unterschiede. Während sie für das 1-Phenyl-2-amino-äthan um das Achtfache über derjenigen bei intraperitonealer Injektion lag und 0,8 g/kg betrug, war die des 1-Phenyl-2-amino-propans mit 0,05 g/kg nur doppelt so hoch. Die übrigen Homologen nahmen bei einer etwa fünfmal höheren Letaldosis eine Mittelstellung ein; auffallend gering wirksam war jedoch das 1-Phenyl-3-amino-butan. Die Tabelle 2 gibt über diese Verhältnisse einen Überblick.

Die Untersuchungen ergaben also, daß unter den Homologen dieser Reihe die pharmakologische Aktivität des 1-Phenyl-2-amino-propans (II)

Tabelle 2.

Nr.	Bezeichnung	Letale Dosen in g/kg Ratte		per os intraper.
		1. intraper.	2. per os	
I	1-Phenyl-2-amino-äthan.....	0,1	0,8	8,0
II	1-Phenyl-2-amino-propan.....	0,023	0,05	2,2
III	1-Phenyl-2-amino-butan	0,07	0,4	5,6
IV	1-Phenyl-2-amino-pentan.....	0,07	0,4	5,6
V	1-Phenyl-3-amino-butan	0,1	>0,6	>6,0

mit seiner dreizähligen C-Kette am größten ist, was sich im Vergiftungsbild, den toxischen Dosen sowohl per injectione als auch per os, nachweisen ließ. Zu- oder Abnahme dieser dreigliedrigen Kette führt zur Wirkungsverminderung. Insbesondere ist der Ablauf des mit eigenartigen Erscheinungen einhergehenden Vergiftungsbildes durch seine lange Dauer und Intensität charakterisiert. Diese Erscheinungen sind bei den höheren und niederen Homologen nur noch abgeschwächt nachzuweisen und auch bei dem isomeren 1-Phenyl-3-amino-propan nicht mehr so ausgeprägt. Während die oralen Wirkungsbedingungen, gemessen an dem Quotienten zwischen letaler Dosis per os und intraperitoneal, bei dem 1-Phenyl-2-amino-äthan (I) sehr ungünstig sind, sind diese bei dem 1-Phenyl-2-amino-propan (II) optimal und bei den vier- und fünfzähligen Homologen noch immer besser als bei dem zweizähligen Präparat. Besonders ungünstig scheinen diese Verhältnisse nur bei dem 1-Phenyl-3-amino-butan (V) zu liegen.

b) N-substituierte Phenylalkylamine.

Der Einfluß der N-Alkylierung ist schon bei zahlreichen Aminen der Adrenalin-Ephedrinreihe geprüft worden (8 bis 11). Dabei hat sich ergeben, daß die N-Alkylierung die Wirksamkeit der betreffenden Verbindungen zumindest nicht steigert und daß sie keinen Einfluß auf die pharmakodynamische Wirksamkeit ausübt [Barger und Dale (2), Bunichi-Hasama (12)]. Im allgemeinen soll sogar die Einführung einer Methylgruppe am N und noch stärker die von zwei Methylgruppen zu einer Wirkungsverminderung führen. Immer wurden auch diese Prüfungen im Hinblick auf die sympathomimetische Wirksamkeit durchgeführt. Bei den hier untersuchten Verbindungen wurde jedoch noch in Sonderheit das zentrale Verhalten beachtet. Eine Anzahl von analog gebauten N-Alkylderivaten des Ephedrins, die sich von den hier geprüften Aminen durch die C 1-ständige, sekundäre, für das Ephedrin charakteristische Alkoholgruppe unterscheiden, wurden von Chen, Chang-Keng-Wu und Henriksen (11) sowie Curtis (10) und Dulière (13) geprüft. Das dem Präparat XI analoge Methylephedrin (XIX) wurde als tertiäres Amin durch Pak und Read (14) eingehend mit dem Ephedrin verglichen und dabei geringere zentrale Wirkung und schwächere Kreislaufbeeinflussung bei voll erhaltener broncho-

dilatatorischer Wirksamkeit gefunden, ein Hinweis, daß die N-Methylierung doch von gewisser Bedeutung sein kann.

Zunächst sei das Verhalten einiger sekundärer Amine angeführt. Zur Verfügung standen die N-Methylverbindungen des 1-Phenyl-2-amino-äthans und -propans sowie des 1-Phenyl-3-amino-butans. Bedeutungsvolle Unterschiede in der Art des Wirkungsbildes ließen sich im Vergleich zu den Nor-Körpern nicht feststellen; wohl aber war die Wirksamkeit dosismäßig geringer als bei den entsprechenden Nor-Verbindungen und auch die Toxizität in ähnlichem Maße herabgesetzt. Die Dosisveränderung zeigt bei den drei geprüften Körpern untereinander durchaus analoge Verhältnisse; die letale Dosis liegt sowohl bei intraperitonealer Injektion als auch bei peroraler Verabreichung für die angeführten Substanzen um 50—80% höher als bei den Nor-Verbindungen. Auch für andere sekundäre und primäre Amine, über die hier nicht berichtet werden soll, ergab sich eine analoge Verschiebung der Dosisgrößen. Sprunghaft verringerten sich sowohl Toxizität wie auch zentrale Erregungserscheinungen bei den tertiären Aminen; so beträgt die Letaldosis des 1-Phenyl-2-dimethylamino-propans nur noch 0,18 g/kg bei der Injektion und 0,75 g/kg per os. Sie liegt also 5- und 10mal höher als die des sekundären Amins. Der Ersatz eines Wasserstoffs der NH_2-Gruppe durch Alkylreste oder auch aromatische Reste ließ mit zunehmender Belastung der Aminogruppe Toxizität und zentrale Wirkungen geringer werden. Während sich das 1-Phenyl-2-äthylamino-propan und das 1-Phenyl-2-propylamino-propan noch nicht wesentlich unterscheiden, ist die Toxizität bei der N-Butylverbindung (XIV) bereits um die Hälfte vermindert und sie wird noch stärker herabgesetzt durch Einführung eines aromatischen Restes, z. B. des Phenyl- oder Naphthylrestes. Die N-Naphthylverbindung (XVII) zeichnet sich geradezu durch eine völlige Inaktivität und äußerst geringe Toxizität — 1,0 g/kg intraperitoneal wirkt weder toxisch noch letal — aus (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3.

Nr.	Bezeichnung	Letale Dosen in g/kg Ratte		per os intraper.
		intraper.	per os	
VI	1-Phenyl-2-methylamino-äthan	0,18	1,4	7,8
VII	1-Phenyl-2-methylamino-propon	0,032	0,07	2,2
VIII	1-Phenyl-3-methylamino-butan	0,15	0,8	5,4
XI	1-Phenyl-2-dimethylamino-propan	0,18	0,75	4,2
XII	1-Phenyl-2-äthylamino-propan	0,08	0,25	3,1
XIII	1-Phenyl-2-propylamino-propan	0,08	0,25	3,1
XIV	1-Phenyl-2-butylamino-propan	0,13	0,39	3,0
XV	1-Phenyl-2-phenylamino-propan	>0,5	>1,5	> 3,0
XVI	1-Phenyl-2-benzylamino-propan	0,08	0,9	11,0
XVII	1-Phenyl-2-naphthylamino-propan	1,0	>3,0	> 3,0
IX	1-Phenyl-1-methyl-2-amino-äthan	0,15	>3,0	>20,0
X	1-Phenyl-1-methyl-2-methylamino-äthan	0,20	>3,0	>15,0

Vergleicht man diese Verhältnisse bei oraler Verabreichung, so findet man bei relativ guter Wirksamkeit ein allmähliches Ansteigen der Letaldosis in dem Maße, wie die Belastung des Stickstoffs zunimmt.

Nur die N-Äthyl- und die N-Butylverbindung lassen noch die charakteristischen zentralen Wirkungen der Grundsubstanz, deutlich jedoch erst in Dosen von $^1/_{10}$ bis $^1/_8$ der letalen Dosis, an der Ratte erkennen. Eine Ausnahmestellung nimmt die N-Benzylverbindung (XVII) ein. Ihre Toxizität ist wieder beträchtlich und es fällt an der Ratte schon eine außerordentliche Förderung der Atmung bei niederen Dosen auf. Aufschlußreich war das Verhalten des 1-Phenyl-1-methyl-2-methylamino-äthans (X), welches sich durch Methylsubstitution am C 1 auszeichnet. Diese Verbindung, die dem 1-Phenyl-2-methylamino-propan (VII) isomer ist, ließ die typischen zentralen Erscheinungen praktisch vermissen. Erst bei $^1/_4$ der Letaldosis, welche mit 0,15 g/kg sehr hoch lag, zeigten sich Erregungserscheinungen, die schließlich in Krämpfe übergingen. Besonders auffallend war die geringe orale Wirksamkeit dieses Körpers. Noch die 20fache Menge der dosis letalis per injectione wurde glatt überlebt. Ganz entsprechend war auch das Verhalten der betreffenden Nor-Verbindung, des 1-Phenyl-1-methyl-2-amino-äthans (IX) (siehe Tabelle 3).

Es ergibt sich also in bezug auf Toxizität und Wirkungsbild, daß zwischen den primären und sekundären Aminen dosismäßig ein kleiner Unterschied besteht, daß dieser jedoch bei dem tertiären Amin sprunghaft größer wird. In Analogie zu dem Methylephedrin konnte eine geringere Wirksamkeit des entsprechenden Desoxykörpers (XI) im Vergleich zu dem entsprechenden sekundären Amin (VII) gefunden werden. Besonders bemerkenswert ist das Verhalten des 1-Phenyl-1-methyl-2-methylamino-äthans (X) im Vergleich zu seinem Isomeren (VII), worauf noch später zurückzukommen sein wird.

c) Ringsubstituierte Phenylalkylamine, Ephedrin usw.

Der Ersatz eines Wasserstoffatoms des Benzolkerns durch eine phenolische Hydroxylgruppe bedingt bekanntlich nach Barger und Dale eine Verstärkung der sympathomimetischen Wirkung, wenn die Einführung in p- oder m-Stellung erfolgt. Gordon und Alles (15) nehmen an, daß die Einführung einer alkoholischen OH-Gruppe, die an dem C-Atom sitzt, das mit dem Benzolring verbunden ist, ungeachtet des Fehlens oder Vorhandenseins phenolischer OH-Gruppen eine Verstärkung der Intensität bedeutet. Schaumann (1) hat gezeigt, daß die chemische Umwandlung des Ephedrins nach dem Adrenalin hin auch eine ähnliche Umwandlung der pharmakologischen Eigenschaften mit sich bringt, daß jedoch für die echte Sympathicotropie das Vorhandensein eines Brenzkatechinkerns unerläßlich ist. Durch die Einführung von Substituenten, wie NH_2-, OCH_3- usw., kann also a priori mit einer Annäherung an den Charakter des Adrenalins nicht gerechnet werden.

Die Einführung von den unten angeführten Substituenten in den Benzolring führt durchweg zu einer Toxizitätsminderung; diese nimmt zum Teil erhebliche Ausmaße an und geht dann mit einer Abnahme der allgemeinen pharmakologischen Aktivität Hand in Hand. Dies gilt vor allem für die Einführung einer p-ständigen Nitro- oder Methoxygruppe. Es zeigte sich, daß das Wirkungsbild des 1-(p-Aminophenyl)-1-methyl-2-methylamino-äthans (XXIII) gegenüber der Grundsubstanz mit dem freien Phenylkern (X) qualitativ wenig abgeändert ist und lediglich die äquieffektiven Dosen um 50% höher liegen. Im Gegensatz dazu ist bei dem 1-(p-Aminophenyl)-2-methylamino-propan eine erhebliche Abschwächung der zentralen Wirksamkeit eingetreten; die charakteristischen Unruhe- und Erregungssymptome werden nur noch wenig beobachtet; das ganze Vergiftungsbild ähnelt wieder mehr dem des β-Phenyläthylamins oder Ephedrins. Die letalen Dosen liegen bei der Injektion um das 2.5fache höher und bei oraler Gabe sogar um das 4,5fache im Vergleich zu dem entsprechenden Präparat VII. Es treten im Vergiftungsbild heftige tonisch-klonische Krämpfe auf (Tab. 4).

Tabelle 4.

Nr.	Bezeichnung	Letale Dosen in g/kg Ratte		per os
		intraper.	per os	intraper.
XVIII	1-Phenyl-2-methylamino-propanol-(1) (Ephedrin)	0,17	0,75	4,4
XIX	1-Phenyl-2-dimethylamino-propanol-(1) (Methylephedrin)	0,21	1,0	4,8
XXII	1-Phenyl-2-(β-oxy-äthyl)-amino-propan	0,25	0,75	3,0
XXI	1-(p-Aminophenyl)-2-methylamino-propan	0,085	0,3	3,5
XXIII	1-(p-Aminophenyl)-1-methyl-2-methylamino-äthan	>0,2	>3,0	>15,0
XXIV	1-(p-Methoxyphenyl)-2-methylamino-propan	>0,3	—	—

Einen ganz ähnlichen Einfluß zeigt die Einführung einer p-ständigen Methoxy-Gruppe. Jedoch sind hier die charakteristischen Erregungserscheinungen noch etwas besser erhalten und lassen sich bis zu $^1/_5$ der dosis letalis nachweisen. Das p-Nitroderivat nimmt in seinem Verhalten eine Mittelstellung ein zwischen VII und XXI. Eine gewisse Latenzzeit bis zum Auftreten der Intoxikationserscheinungen ist charakteristisch, so daß die Annahme einer intravitalen Reduktion der NO_2-Gruppe zur NH_2-Gruppe berechtigt erscheint. Schließlich sei noch erwähnt, daß der Ersatz des Phenylkerns durch Naphthyl, wie zu erwarten [Loewe (3)], zu einer völligen Abschwächung der charakteristischen Phenylalkyleigenschaften führt. Das geprüfte 1-Naphthyl-2-methylamino-propan zeichnet sich durch äußerst geringe Aktivität aus; zentrale Erscheinungen werden nicht beobachtet, die letale Dosis liegt über 0,5 g/kg. Vergleichsweise sei auch

das durch seine alkoholische Hydroxylgruppe charakteristische Ephedrin angeführt. Seine letale Dosis wurde über fünfmal höher gefunden als die des entsprechenden Oxyephedrins. Endlich wurde noch ein Körper geprüft, der als Thioephedrin bezeichnet werden kann (XXVI). Hierbei ergaben sich keine sonderlichen Abweichungen bis auf eine etwas geringere Toxizität; insgesamt waren die typischen Ephedrinwirkungen zu erkennen.

Wurde eine alkoholische primäre OH-Gruppe in Form eines Äthanolrestes am N eingeführt (XXII), so ergab sich eine Minderung der Toxizität und der zentralen Erscheinungen, die bei dem entsprechenden hydroxylfreien Präparat XII noch ausgesprochen vorhanden war.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß in bezug auf Toxizität und allgemeine Aktivität an der Ratte durch Einführung einer Hydroxylgruppe — sei es durch p-Stellung im Kern, sei es in Form einer sekundären Alkoholgruppe in die Seitenkette oder einer primären alkoholischen Hydroxylgruppe in Form des am N eingeführten Äthanolrestes — eine deutliche Abschwächung gegenüber dem OH-freien Grundkörper erzielt wird. Den gleichen abschwächenden Effekt zeigt eine p-ständige Aminogruppe, Nitrogruppe oder eine in der Seitenkette am C 1 eingeführte SH-Gruppe. Weniger stark ist die Abschwächung der zentralen Wirkung durch Einführung einer p-ständigen Methoxygruppe.

2. Blutdruck, Herz, Kreislauf.

Die umfangreichen vergleichenden Untersuchungen wurden am Blutdruck der narkotisierten Katze, am isolierten Warmblüterherzen sowie

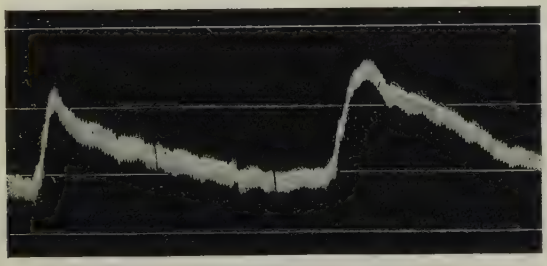


Abb. 1. Blutdruckversuch, Katze.
Links: 0,02 mg/kg 1-Phenyl-2-amino-äthan.
Rechts: 0,02 mg/kg 1-Phenyl-2-amino-propan.

vereinzelt am isolierten Froschherzen durchgeführt. Erschwerend wirkte hierbei die durch die meisten Substanzen hervorgerufene Tachyphylaxie, welche anfangs jede vergleichende Beurteilung zu vereiteln schien und zur Verwendung eines großen Tiermaterials zwang. Im Laufe der Untersuchungen gelang es jedoch durch geeignete Auswahl der Tiere und durch geeignete Tiefe der Narkose, niedrigste Dosierung der Präparate usw., das Auftreten tachyphylaktischer Reaktionen weit hinauszuschieben. Es

wurden nur solche Blutdruckversuche bewertet, bei denen die anfängliche und abschließende Injektion des die Tachyphylaxie bedingenden Präparates die gleichen Effekte ergaben; weiterhin wurden alle Befunde in vielfach wiederholten Versuchen reproduziert und bestätigt.

Der in Abb. 1 ersichtliche Versuch zeigt die recht kräftige blutdrucksteigernde Wirkung des 1-Phenyl-2-amino-äthans (β-Phenyläthylamin) noch in Dosen von 0,02 mg/kg, die jedoch von der des 1-Phenyl-2-aminopropans noch um einiges übertroffen wird. Die Abb. 2 zeigt ebenfalls

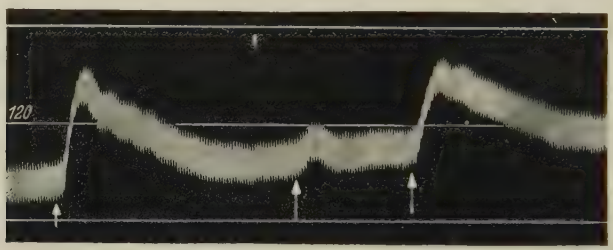


Abb. 2. Blutdruckversuch, Katze. Von links nach rechts:
0,02 mg/kg 1-Phenyl-2-methylamino-äthan (I),
0,05 mg/kg 1-Phenyl-2-amino-pentan (IV),
0,05 mg/kg 1-Phenyl-2-amino-butan (III).

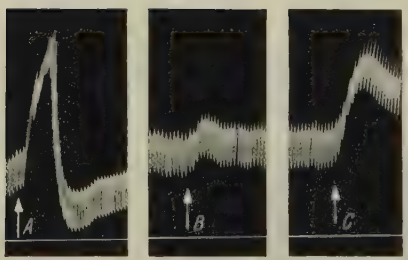


Abb. 3.
a) 0,001 mg/kg Adrenalin; b) 0,03 mg/kg 1-(p-Oxyphenyl)-2-methylamino-äthanol; c) 0,03 mg pro kg 1-Phenyl-2-amino-äthan.

zunächst eine Zacke des 1-Phenyl-2-amino-äthans, dann wurde das 1-Phenyl-2-amino-pentan mit nur angedeutetem Effekt trotz $2^1/_2$fach höherer Dosis gegeben und schließlich erreichten 0,05 mg/kg von dem 1-Phenyl-2-amino-butan etwa die Wirkungsstärke von 0,02 mg/kg des Präparates I. Die Kurve Abb. 3 zeigt einen Vergleich der Wirksamkeit des Adrenalins in einer Dosis von 0,001 mg/kg mit der des 1-Phenyl-2-amino-äthans und zeigt weiterhin, daß ein gebräuchliches Kreislaufmittel, das durch zwei Oxygruppen charakterisierte 1-(p-Oxyphenyl)-2-methylamino-äthanol diesbezüglich geringer wirksam ist. — Nach diesen Befunden war weiterhin von Interesse festzustellen, ob die N-Substitutionsprodukte des 1-Phenyl-2-amino-propans abgeänderte Wirksamkeit aufweisen.

Aus Abb. 4a ist unschwer zu ersehen, daß dem sekundären Amin eine nur etwas schwächere, dem tertiären Amin dagegen eine wesentlich geringere Wirksamkeit zukommt. Die Substitution der Methylaminogruppe durch Äthylamino-, Propylamino-, Butylaminogruppen usw. (XII—XVII) zeigt, daß mit stärkerer Belastung des N eine erhebliche Abschwächung des pressorischen Effektes Hand in Hand geht und sogar zum Teil Senkungen,

mit Regelmäßigkeit z. B. bei dem N-Phenylderivat (XV), erhalten werden. Die Einführung einer sekundären oder primären OH-Gruppe oder auch die einer p-ständigen Aminogruppe verstärkt die pressorische Wirksamkeit im Vergleich zur Ausgangssubstanz nicht, im Gegenteil, die zwei geprüften Körper mit p-ständiger Aminogruppe waren wesentlich schwächer blutdruckwirksam (Abb. 4b und 4c).

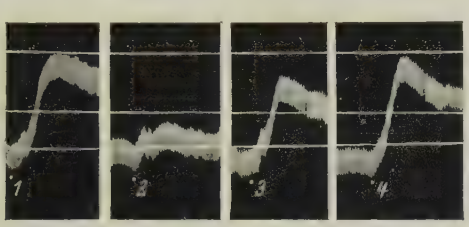


Abb. 4a.
1. 1-Phenyl-2-amino-propan; 2. 1-Phenyl-2-dimethylamino-propan; 3. 1-Phenyl-2-methylamino-propan; 4. 1-Phenyl-2-amino-propan; jeweils 0,02 mg/kg intravenös.

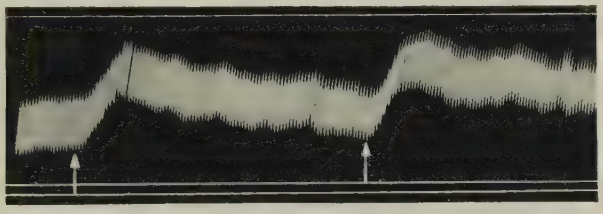


Abb. 4b. Blutdruckversuch, Katze.
Links: 0,05 mg/kg 1-Phenyl-2-äthylamino-propan.
Rechts: 0,05 mg/kg 1-Phenyl-2-äthanolamino-propan.

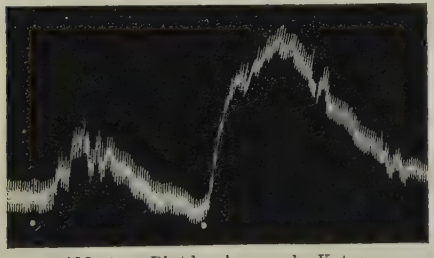


Abb. 4c. Blutdruckversuch, Katze.
Links: 0,2 mg/kg 1-(p-Aminophenyl)-1-methyl-2-methylamino-äthan (XXXIII).
Rechts: 0,2 mg/kg 1-Phenyl-1-methyl-2-methylamino-äthan (X).

Besondere Beachtung fand noch die orale Blutdruckwirksamkeit einiger dieser Präparate, und es stellte sich heraus, daß sowohl 1-Phenyl-2-amino-äthan wie auch seine nächsten Verwandten per os nur in recht hohen Dosen eine Blutdruckwirkung zu produzieren in der Lage waren, während die entsprechenden Homologen aus der Phenyl-amino-propan-reihe günstige orale Wirkungsbedingungen aufwiesen. Da sich diese beiden

Gruppen durch Zweizahl und Dreizahl der Seitenketten-Kohlenwasserstoffatome unterscheiden, war das Verhalten der Isomeren IX und X sowie das von V von besonderem Interesse. Alle drei Präparate zeichneten sich, wie schon auf Grund der Rattenversuche zu vermuten war, durch eine äußerst schlechte enterale Wirksamkeit aus. Selbst 30fache Erhöhung der Dosis, die bei intravenöser Injektion zu einem starken pressorischen Effekt führte, war per os noch völlig unwirksam.

Weitere Prüfungen wurden am isolierten Froschherzen nach Straub durchgeführt. Einmal wurden die schädigenden Grenzdosen ermittelt,

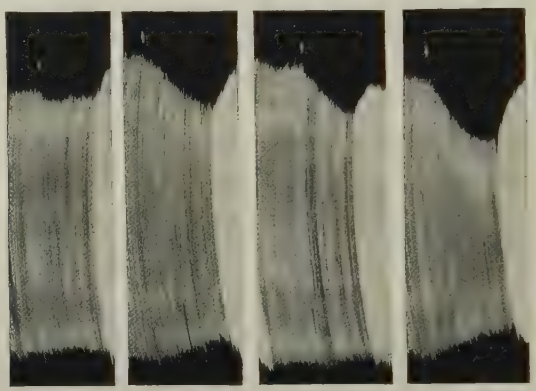


Abb. 5. Isoliertes Froschherz, je 0,01 mg der Präparate I—IV.

zum anderen wurde versucht festzustellen, ob einige der Substanzen einen günstigen Einfluß auf die durch Kaliumchlorid gesetzte Schädigung besaßen. Hierbei ergab sich, daß keine der geprüften Substanzen, mit Ausnahme des Phenyläthylamins, der OH-haltigen sowie der in p-Stellung NH_2-substituierten Körper, in der Lage war, den Kaliumschaden zu kompensieren. Bei den genannten günstiger wirkenden Verbindungen war jedoch auch nicht immer, sondern nur in einigen Fällen und unter besonders guten Bedingungen ein Effekt zu erzielen. Die toxischen Erscheinungen waren bei allen Präparaten mit Ausnahme von dem N-Phenyl- und N-Benzylderivat, die sich als besonders herzgiftig erwiesen, gekennzeichnet durch eine Abnahme der systolischen Kontraktionen; bei höheren Konzentrationen äußerten sich die Schädigungen in Form von Überleitungsstörungen und Arrhythmie. Die Abb. 5 zeigt einen Versuch am Froschherzen, in dem das 1-Phenyl-2-amino-äthan in einer Verdünnung von 1 : 10000 noch keinen schädigenden Einfluß ausübt und im Gegenteil nach dem Auswaschen noch eine deutliche Nachbesserung eintreten läßt. Die höheren Homologen zeigen stärkere Schädigungen. Diese Verhältnisse ließen sich am isolierten Warmblüterherzen mit einer nach Langendorff modifizierten Methodik noch besser demonstrieren (Abb. 6). 0,05 mg 1-Phenyl-2-amino-äthan

wirkte sowohl positiv inotrop wie auch positiv chronotrop, während in gleicher Dosierung das 1-Phenyl-2-amino-propan, -butan und -pentan mit weiterer Zunahme der C-Atome in der Seitenkette eine immer ungünstigere Herzwirkung aufwiesen. Typisch für alle drei Homologen, mit Ausnahme des

Abb. 6. Isoliertes Meerschweinchenherz. (Die Zahlen bedeuten die Frequenz, Markierung auf der Grundlinie die Zeit, die Markierung darüber die Coronardurchströmung; Zeit = 1/4 Min.) 1. 1-Phenyl-2-amino-äthan, 0,05 mg (I); 2. 1-Phenyl-2-amino-propan, 0,05 mg (II); 3. 1-Phenyl-2-amino-butan, 0,05 mg (III); 4. 1-Phenyl-2-amino-pentan, 0,05 mg (IV). (Die Unregelmäßigkeiten in der Zeit- und Tropfenregistrierung bei 3 und 4 sind z. T. durch Störung im Kymographion bedingt.)

1-Phenyl-2-amino-äthans, war eine initiale Phase negativ inotroper und negativ chronotroper Wirkung, der dann allenfalls noch bei dem 1-Phenyl-2-amino-propan eine stark positiv chronotrope und nur wenig positiv inotrope Phase folgte und bei dem Butyl- und Pentylamin jedoch in eine

dauernde negative Inotropie überging bei nach einem gewissen Stadium der Latenz noch ausgeprägter positiv chronotroper Wirkung.

Aufschlußreich waren entsprechende Versuche an unter gleichen Bedingungen schlagenden Herzen bei einer erhöhten Dosierung von 1-Phenyl-

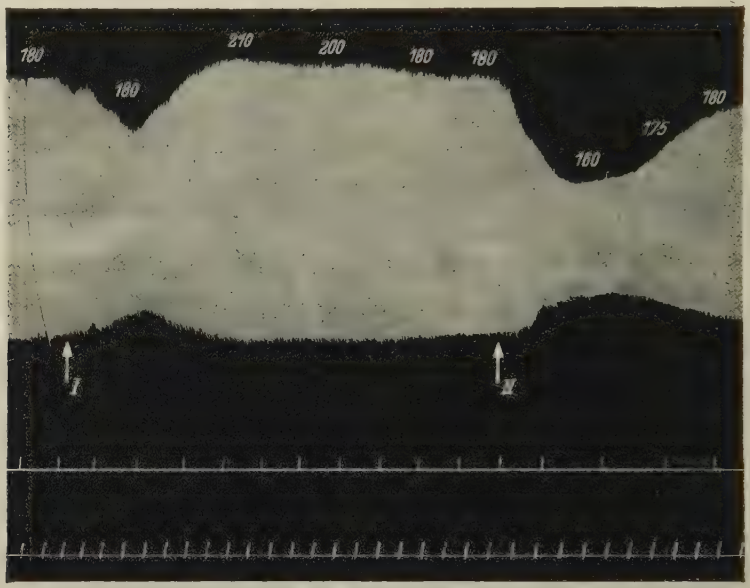


Abb. 7. Isoliertes Meerschweinchenherz.
1. 0,1 mg 1-Phenyl-2-amino-äthan (I).
2. 0,1 mg 1-Phenyl-2-amino-pentan (IV).

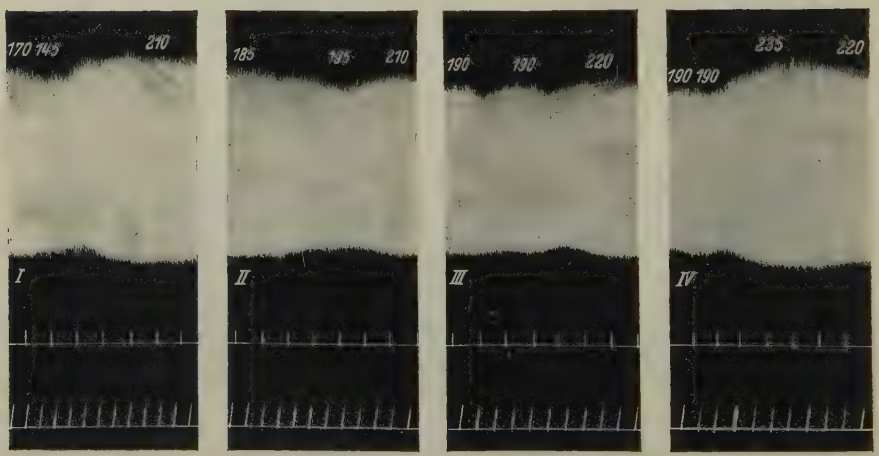


Abb. 8. Isoliertes Meerschweinchenherz.
1. 0,05 mg 1-Phenyl-2-äthylamino-propan (XII).
2. 0,05 mg 1-Phenyl-2-äthanol-propan (XXII).
3. 0,025 mg 1-Phenyl-2-methylamino-propanol (XVIII).
4. 0,025 mg 1-(p-Oxyphenyl)-2-methylamino-propan (XX).

2-amino-äthan, die schon zu einer vorübergehenden Schädigung führte. Hier war, trotz stark negativ inotroper Wirkung, niemals ein negativ chronotroper Effekt festzustellen, während, wie z. B. aus der Abb. 7 ersichtlich, das anschließend vergleichsweise gegebene 1-Phenyl-2-amino-pentan sowohl negativ inotrop wie auch negativ chronotrop wirkte. In Ergänzung hierzu zeigt Abb. 8, daß die hydroxylhaltigen Präparate (XXII, XVIII, XX) bei diesen Dosen und unter diesen Versuchsbedingungen niemals eine negative Chronotropie aufweisen und auch die negativ inotrope

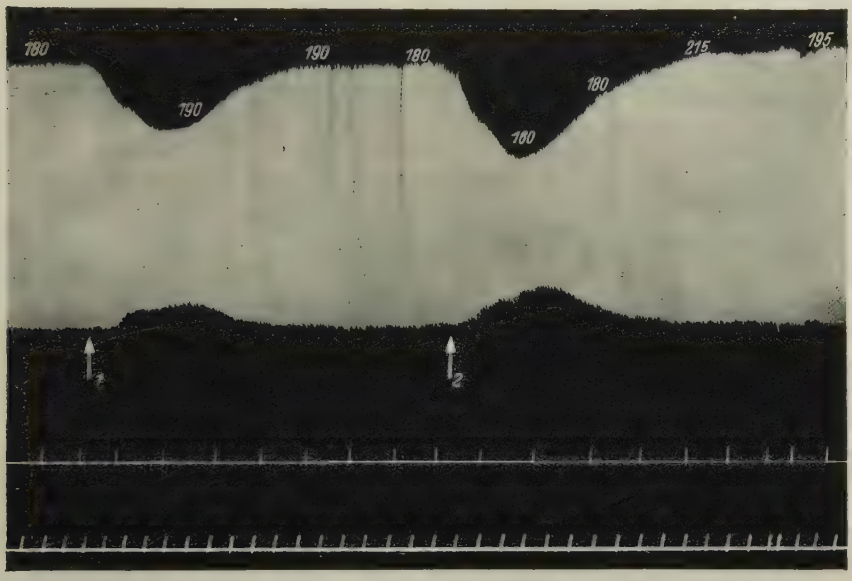


Abb. 9. Isoliertes Meerschweinchenherz.
1. 0,1 mg 1-Phenyl-1-methyl-2-methylamino-äthan (X).
2. 0,1 mg 1-Phenyl-2-amino-propan (II).

Wirkung nur angedeutet ist, daß dagegen das dem 1-Phenyl-2-β-oxy-äthylamino-propan analoge OH-freie Präparat XII bei ebenfalls nur angedeuteter negativ inotroper Wirkung auch wieder deutlich negativ chronotrop wirkt. Schließlich sei in diesem Zusammenhang noch das Verhalten des 1-Phenyl-1-methyl-2-methylamino-äthans (X) von Interesse. Die Abb. 9 zeigt, daß dieser Körper trotz negativ inotroper Wirkung — genau wie das anschließend gegebene isomere 1-Phenyl-2-methylamino-propan (VII) — im Gegensatz zu jenem einen positiv chronotropen Effekt von Anfang an aufweist. Nach Bun-ichi-Hasama (12) und anderen Autoren kommen dem 1-Phenyl-2-amino-äthan erhebliche, wenn auch nicht reine Sympathicusreizwirkungen zu. Die kleinste blutdrucksteigernde Dosis betrug 0,05 mg/kg Kaninchen. Wir konnten in unseren Versuchen im Vergleich dazu mit Regelmäßigkeit eine stärkere Blutdruckwirksamkeit des 1-Phenyl-

2-amino-propans feststellen, während das 1-Phenyl-3-amino-propan gegenüber I schwächer wirksam gefunden wurde. Ähnlich wie für die am Stickstoff einmal oder doppelt methylierten Derivate des 1-Phenyl-2-amino-äthans ein Abfallen der Blutdruckwirksamkeit bekannt ist, konnte dies auch für die sekundären und tertiären Amine mit der dreizähligen Seitenkette des 1-Phenyl-2-amino-propans erwiesen werden. Jedoch ist der Unterschied zwischen II und VII wesentlich geringer als zwischen VII und XI. Die Einführung einer p-ständigen Aminogruppe schwächt sowohl bei den Äthylamin- als bei den Propylaminkörpern die Wirksamkeit ab; die Einführung einer sekundären OH-Gruppe (Ephedrin) vermindert die Blutdruckwirksamkeit, während sie als primäre OH-Gruppe am Stickstoff keinen Einfluß ausübt (XXII) und in p-Stellung im Kern eine leichte Verstärkung bedingt.

Nach Barbour und Fränkel (16) ist das 2-Phenyl-2-amino-äthan ein Gift für den Herzmuskel, welches ihn in kleinen Dosen anregt, in großen lähmt. Die Blutdruckwirksamkeit sei hauptsächlich auf eine Beeinflussung der Herztätigkeit zurückzuführen. In allen Dosierungen bestehe die Tendenz zur Verengerung der Coronargefäße. — In den vorliegenden Untersuchungen am isolierten Herzen ließen sich drei Tatsachen herausstellen:

Die Zunahme der Zahl der Kohlenstoffatome der Seitenkette führt zu einer Erhöhung der Herzgiftigkeit. Die Tendenz zur Verengerung der Coronargefäße nimmt mit Verlängerung der Seitenkette ebenfalls zu. Die sich direkt vom 1-Phenyl-2-amino-propan ableitenden Derivate und dieses selbst unterscheiden sich von den Phenyläthylaminen durch das Auftreten einer initialen negativ chronotropen Wirkung.

3. Zentrale Wirksamkeit.

Wenn auch die Vergiftungsbilder der Substanzen an der Ratte gewisse Aussagen über die Intensität der zentralen Wirksamkeit zuließen, so war doch eine exaktere Prüfung wünschenswert, um die Bedingungen, welche für eine optimale Wirkung notwendig sind, besser zu erfassen. Es bestand die Möglichkeit, dies auf den verschiedensten Wegen durchzuführen, z. B. durch Bestimmung der Weckwirkung gegenüber verschiedenen Narkoticis, durch Reflexversuche usw. Zum Teil wurden auch derartige Untersuchungen durchgeführt; aber es zeigte sich, daß bei der großen Zahl der geprüften Verbindungen eine andere Methode, und zwar die Messung der Spontanaktivität normaler oder besser mit Natriumbromid vorbehandelter Mäuse im Zitterkäfig vor und nach Behandlung mit den entsprechenden Präparaten eine bessere Möglichkeit der Beurteilung gestattete. Außerdem ist der Aufwand an Zeit und Tiermaterial bei diesem Verfahren ungleich geringer (s. Kurven Abb. 10). Die Methodik gestaltete sich folgendermaßen:

Mäuse von 15—25 g Gewicht erhielten jeweils 0,6 g/kg Natriumbromid intraperitoneal injiziert. Anschließend wurden die Tiere in einen Zitterkäfig gesetzt

und die zu prüfenden Substanzen nach genügender Beruhigung immer in einer Flüssigkeitsmenge, die zwischen 0,1 und 0,2 ccm schwankte, intraperitoneal injiziert. Die so erhaltenen Kurven wurden von verschiedenen Personen beurteilt und ausgewertet. Jede Kurve bekommt 4 Punkte, die entweder 4 Pluszeichen

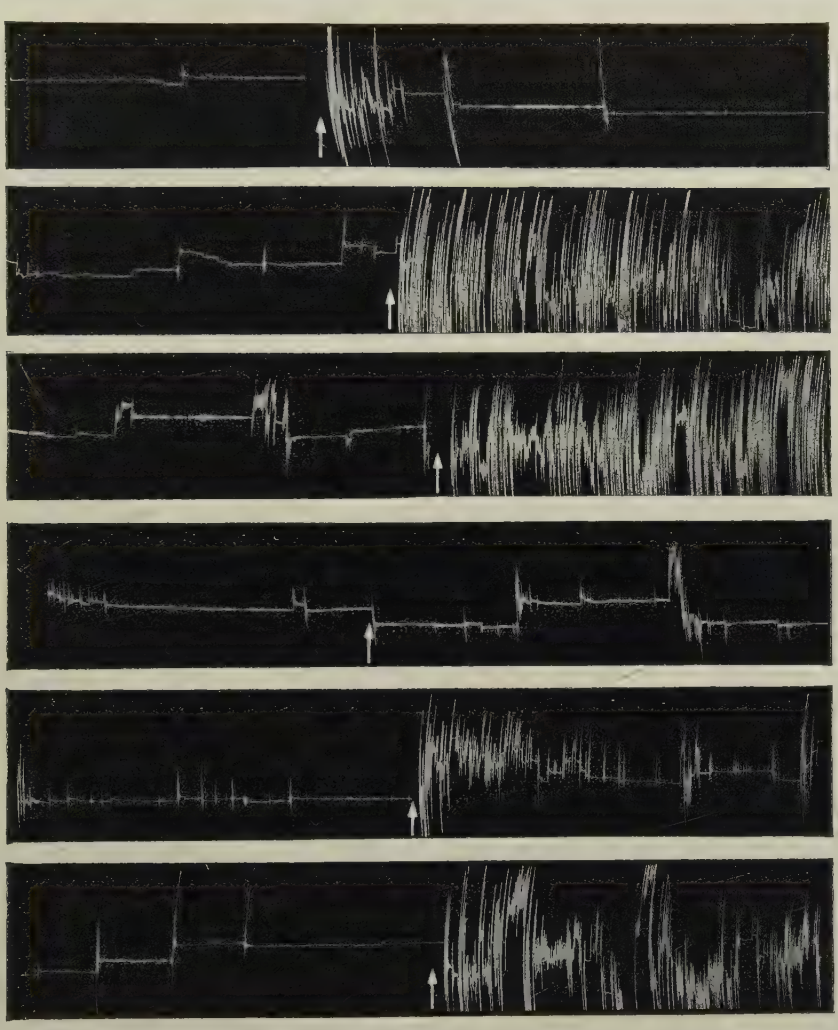


Abb. 10.

Bewegungskurven der weißen Maus (Vorbehandlung mit NaBr) von oben nach unten: Pentamethylentetrazol, 0,02; 1-Phenyl-2-methylamino-propan (VII) 0,001; 1-Phenyl-2-amino-propan (II) 0,0005; rac. 1-Phenyl-2-methylamino-propanol (XVIII) 0,01; l-1-Phenyl-2-methyl-amino-propanol 0,01; Coffein 0,01 mg/kg.

bei positiver Wirkung oder 4 Minuszeichen bei negativer Wirkung oder auch 3 Plus- und 1 Minus- oder je 2 Plus- und 2 Minuszeichen usw. je nach Wirkung sein können. Somit war es möglich, die große Zahl der Kurven von verschiedensten Personen ohne Kenntnis der injizierten Präparate objektiv daraufhin beurteilen zu lassen,

ob eine Zunahme der Spontanaktivität vorliegt. Es wurden mindestens 3, meist jedoch 4 Kontrollversuche pro Dosis durchgeführt. Für jede Dosierung und von jeder Person wurden also 16 Plus- oder Minuszeichen erteilt, die dann zur mathematischen Auswertung kamen. Die Berechnung der mittleren wirksamen bzw. minima erregenden Dosis erfolgte nach der von Kärber (17) angegebenen Formel:

$$(aM) = D_m - \frac{\sum (z \cdot d)}{m}.$$

Dabei bedeuten aM = arithm. Mittel (Mittelwert), D_m = Dosis, bei der alle Tiere reagieren, z = halbe Summe der je 2 aufeinanderfolgenden Dosen reagierenden Tiere, d = Differenz der Zahlenwerte je 2 aufeinanderfolgender Gruppen, m = Anzahl der Tiere jeder Gruppe.

Der so für die einzelnen Präparate erhaltene aM wird in Beziehung gesetzt zur letalen Dosis (let. Dosis: aM). Dieser Quotient stellt in Annäherung einen Maßstab für die „Wirkungsbreite" der Substanzen in bezug auf den zentral-motorischen Effekt — etwa in Analogie zur „Narkosebreite" — dar und gestattet einen Vergleich der einzelnen Präparate untereinander. Es ergab sich, in Übereinstimmung mit den schon bei den Rattenversuchen gewonnenen Anhaltspunkten, daß die stärkste zentrale Wirksamkeit den Präparaten II und VII zukommt, während zunehmende Belastung des N über eine Methylgruppe hinaus zu einer Minderung führt und auch sonstige Änderungen im Strukturgefüge bei den geprüften Körpern in den meisten Fällen einen Wirkungsabfall bedingen. In Tabelle 5 sind die entsprechenden Zahlenwerte angeführt.

Tabelle 5.

Nr.	Bezeichnung	1. Mittlere minimal erregende Dosis in g/kg Maus	2. Mittlere letale Dosis in g/kg Maus	Wirkungsbreite 2 : 1
I	1-Phenyl-2-amino-äthan	0,03	0,1	3,3
II	1-Phenyl-2-amino-propan	0,00055	0,023	43,0
III	1-Phenyl-2-amino-butan	0,008	0,07	8,7
IV	1-Phenyl-2-amino-pentan	0,014	0,07	5,0
V	1-Phenyl-3-amino-butan	>0,03	0,1	<3,3
VI	1-Phenyl-2-methylamino-äthan	>0,05	0,18	<3,5
VII	1-Phenyl-2-methylamino-propan	0,0009	0,032	35,6
XI	1-Phenyl-2-dimethylamino-propan	0,01	0,18	18,0
XII	1-Phenyl-2-äthylamino-propan	0,004	0,08	12,0
XIII	1-Phenyl-2-n-propylamino-propan	0,005	0,08	16,0
XIV	1-Phenyl-2-n-butylamino-propan	etwa 0,03	0,13	etwa 4,0
XVIII	1-Phenyl-2-methylamino-propanol-(1)	0,019	0,17	9,0
XX	1-(p-Oxyphenyl)-2-methylamino-propan	0,015	0,1	6,7
XXII	1-Phenyl-2-β-oxy-äthylamino-propan	0,08	0,25	3,1
XXIV	1-(p-Methoxyphenyl)-2-methylamino-propan	0,05	0,3	etwa 6,0

Während das Ausmaß der zentralanaleptischen Wirkung des Ephedrins und seine Verwertbarkeit als Weckmittel noch umstritten sind [Kreitmair (18), Killian (19) u. a.], war die zentralanaleptische Wirkung des

1-Phenyl-2-amino-propans in den letzten Jahren Gegenstand eingehenderer, vor allem klinischer Prüfungen. Jacobsen und Mitarbeiter (20) prüften die Weckwirkung einiger Amine an mit verschiedensten Schlafmitteln vorbehandelten Mäusen und fanden das sekundäre Amin stärker als das primäre 1-Phenyl-2-amino-propan. Die vorliegenden sowie frühere Untersuchungen stehen damit in Widerspruch. In Übereinstimmung konnten dagegen diese Autoren bestätigen, daß die zentrale Wirkung bei tertiären Aminen abgeschwächt ist und der Eintritt von Hydroxylgruppen in Kern und Seitenkette die Weckwirkung weiter abschwächt.

Lumière (21) fand an mit Barbiturat narkotisierten Mäusen durch 0,006—0,012 g/kg 1-Phenyl-2-amino-propan eine dem Strychnin überlegene Weckwirkung, während das 1-Phenyl-1-amino-propan und 1-Phenyl-3-amino-propan (α- und γ-Propylamin) wesentlich schwächer waren.

4. Glatte Muskulatur, Atmung.

Die spasmolytische Wirksamkeit eines Teils der Substanzen wurde am durch Doryl oder Bariumchlorid spastisch verengten isolierten Warmblüterdarm geprüft. Als Vergleich diente Papaverin, dessenWirkungsstärke gleich 1 gesetzt wurde. Die Tabelle 6 gibt eine Übersicht und läßt erkennen,

Tabelle 6.

Nr.	Bezeichnung	Wirkungsstärke (Papaverin = 1)
I	1-Phenyl-2-amino-äthan	0,16
II	1-Phenyl-2-amino-propan	0,2
III	1-Phenyl-2-amino-butan	0,3
IV	1-Phenyl-2-amino-pentan	0,4
V	1-Phenyl-3-amino-butan	0,25
VII	1-Phenyl-2-methylamino-propan	0,2
X	1-Phenyl-1-methyl-2-methylamino-äthan	0,8
XI	1-Phenyl-2-dimethylamino-propan	0,4
XV	1-Phenyl-2-phenylamino-propan	0,5
XVI	1-Phenyl-2-benzylamino-propan	0,9
XVIII	1-Phenyl-2-methylamino-propanol-(1)	0,25

daß keine der geprüften Verbindungen stärker spasmolytisch wirksam ist als Papaverin. Es ist noch zu bemerken, daß die Angriffspunkte der Präparate XV und XVI vor allem myotroper Natur sind, daß diese Stoffe also papaverinähnlichen Charakter besitzen, während die Angriffspunkte der übrigen Substanzen mehr neurotroper bzw. gemischter Natur sind. Besonders augenfällig war der Unterschied in der Wirkungsstärke zwischen der Monomethylverbindung (VII) und der entsprechenden Dimethylverbindung (XI), während sich die Nor-Verbindung nicht von der Wirksamkeit des Präparates VII unterschied. Äußerst kräftige spasmolytische Eigenschaften, die fast die Wirkungsstärke des Papaverins erreichten, zeigt

die den Benzylrest als Substituenten am N enthaltende Verbindung XVI (s. Abb. 11), die sich auch gleichzeitig durch besonders starke lokalanästhetische Eigenschaften auszeichnet. Im allgemeinen sind die Wirkungen sämtlicher geprüfter Stoffe zweiphasisch, d. h. der Lähmung geht ein mehr oder weniger lang anhaltender Zustand initialer Erregung voraus.

Auf ihre bronchospasmolytische Fähigkeit hin wurden u. a. die Präparate II, VII, XI und XVI geprüft und mit Ephedrin (XVIII) verglichen. Die Versuche wurden am künstlichen Bronchospasmus der Katze in der von Kiese (22) modifizierten Methode nach Tiefensee (23) durchgeführt. Es ergab sich bei diesen Untersuchungen für das Präparat XVI

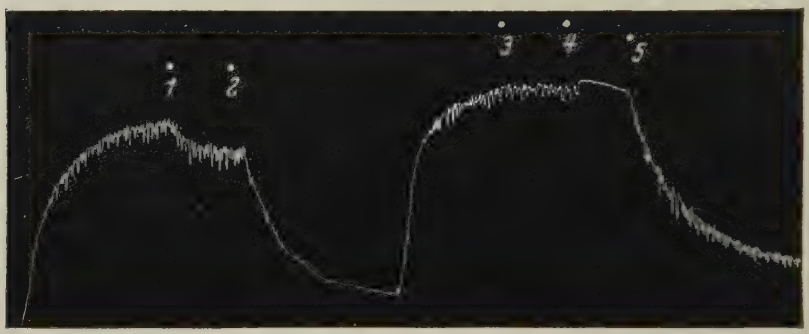


Abb. 11. Isolierter Meerschweinchendarm ($BaCl_2$-Spasmus).
1. Phenyl-2-methylamino-propan 1 : 50000 (VII).
2. Papaverin-hydrochlorid 1 : 50000.
3. 1-Phenyl-2-amino-äthan 1 : 50000 (I).
4. 1-(p-Aminophenyl)-2-methylamino-propan 1 : 25000 (XXI).
5. 1-Phenyl-2-benzylamino-propan 1 : 25000 (XVI).

eine besonders gute dem Ephedrin überlegene Wirksamkeit. Jedoch traten häufig bei den notwendigen Dosen von 1—2 g/kg bereits deutliche Schädigungen von seiten des Herzens und des Kreislaufs auf. Auch das Präparat XI war relativ gut wirksam, während VII und II erst in Dosen, die in der Größenordnung des XVIII lagen, einen schwachen Effekt zeigten. Hierbei traten äußerst starke Reaktionen von seiten des Kreislaufs auf. Besonders erschwert waren diese Versuche durch die bei den notwendigen hohen Dosen regelmäßig auftretende Tachyphylaxie (s. Abb. 12).

Besonderes Interesse fand noch die genauere Untersuchung der atmungsanaleptischen Wirkungen einiger dieser Körper. An mit Morphin geschädigten Kaninchen oder Katzen wurde die Atmungsbeeinflussung mittels Registrierung des Minutenvolumens (Gasuhr, Gildemeister-Ventil) untersucht. Es kamen die Präparate II, III, VI, X, XI, XVI, XVII, XIX, XXI und XXIII zur Prüfung, aus deren allgemeinem Verhalten oder aus Analogieschlüssen eine Atemwirkung vermutet werden konnte oder auch bereits bekannt war. Die Körper X und XVI zeichneten sich durch besonders kräftige atemanaleptische Wirkung aus (die verwendeten

Dosen schwanken zwischen 0,1 und 2,0 mg/kg) (s. Abb. 13). Die anderen Präparate wiesen ebenfalls, jedoch weniger intensiv, fördernde Wirkungen auf die Atemtätigkeit auf, während bei den Präparaten XXI und XXIII eine äußerst geringe Wirksamkeit hervorgehoben werden muß. Erst in sehr hohen Dosen ließ sich bei diesen Präparaten ein gewisser Effekt erzielen.

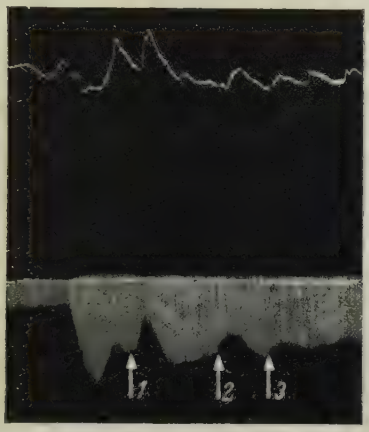


Abb. 12. Bronchospasmus (Katze) (Pilocarpinspasmus).
1. 1 mg/kg 1-Phenyl-2-benzylamino-propan (XVI).
2. 1 mg/kg 1-Phenyl-2-dimethylamino-propan (XI).
3. 1 mg/kg 1-Phenyl-2-amino-propan (II).

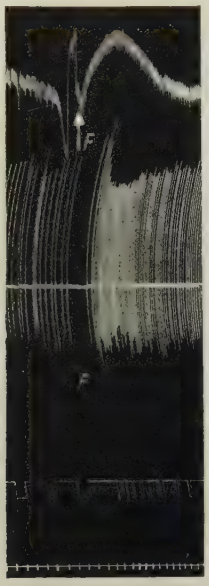


Abb. 13. Atemversuch, Katze; bei *F* nach Eintritt der Morphinschädigung 0,5 mg/kg 1-Phenyl-1-methyl-2-methylamino-äthan (X) intravenös.

5. Optische Aktivität.

Es ist bekannt, daß zahlreiche pharmakologisch wichtige Verbindungen in optisch aktiver Form vorkommen und daß diese sich in der Wirkungsstärke von ihren Racematen unterscheiden. Die klassischen Beispiele des Hyoscyamins und Cocains seien nur erwähnt (Cushny und Gottlieb). An dem Beispiel des Adrenalins konnten durch E. Abderhalden und Mitarbeiter ähnliche Gesetzmäßigkeiten erwiesen werden. Später haben Schaumann (24), Chen und Mitarbeiter (11) für weitere Körper aus der Reihe der biogenen Amine ein unterschiedliches Verhalten der optischen Komponenten beschrieben, was zum Teil nicht unerwidert blieb [Kreitmair (25)]. Pak und Read (26) fanden in der pharmakologischen Wirkung von l- und d-l-Ephedrin einen Unterschied von 20—30%. Kreitmair stellte fest, daß, falls überhaupt ein Wirkungsunterschied vorhanden, dieser bei den optischen Komponenten des Ephedrins mit den bisherigen pharmakologischen Methoden nicht nachweisbar ist. Bei einem anderen

verwandten Körper, dem p-Oxyphenylisopropylamin, konnten Lindner (27) und später Metz (28) keine nachweisbaren Unterschiede zwischen den optischen Antipoden feststellen. So sehr man wohl erhoffte, in dieser Hinsicht gewisse Gesetzmäßigkeiten zu finden, dürften die bisherigen Befunde kaum gestatten, irgendwelche gemeinsamen Schlüsse zu ziehen. Um so mehr kann die Prüfung weiterer optischer Isomerer aus der Adrenalin-Ephedrin-Reihe einen Beitrag zu dieser Frage geben, zumal es sich bei den geprüften Phenylalkylaminen um die Grundsubstanzen der oben erwähnten hydroxylhaltigen Verbindungen handelt.

Es ist noch hinzuzufügen, daß das dem l-Ephedrin analoge, optisch aktive Desoxyephedrin, also das 1-Phenyl-2-methylamino-propan, auf Grund seines stereochemischen Baues rechts dreht. Im Einklang damit wäre dann mit einer stärkeren Wirksamkeit der d-Form zu rechnen.

Zur Prüfung stand eine Anzahl optisch isomerer Phenylalkylamine zur Verfügung, und zwar die primären, die sekundären und die tertiären Substitutionsprodukte des 1-Phenyl-2-amino-propans sowie das entsprechende p-Aminoderivat der sekundären Base. Vergleichsweise wurde in diese Untersuchungen noch das l-Ephedrin und das racemische Ephedrin einbezogen. Die Toxizitäts-Prüfungen ergaben zum Teil bei einheitlichem Wirkungscharakter gewisse Dosierungsunterschiede. Tabelle 7 zeigt, daß

Tabelle 7.

Bezeichnung	Dos. let. g/kg Ratte intraper.	Mittlere minimal erregende Dosis
d-1-Phenyl-2-amino-propan	0,020	0,0004
dl-1-Phenyl-2-amino-propan	0,023	0,00055
d-1-Phenyl-2-methylamino-propan	0,025	0,00028
l-1-Phenyl-2-methylamino-propan	0,07	0,0043
dl-1-Phenyl-2-methylamino-propan	0,032	0,0009
d-1-Phenyl-2-dimethylamino-propan	0,08	0,003
dl-1-Phenyl-2-dimethylamino-propan	0,18	0,01
d-1-(p-Aminophenyl)-2-methylamino-propan	0,3	0,05
dl-1-(p-Aminophenyl)-2-methylamino-propan	0,5	0,05
l-Ephedrin	0,15	0,015
dl-Ephedrin	0,17	0,02

die l-Form des 1-Phenyl-2-methylamino-propans geringer wirksam ist als das Racemat und dieses wieder geringer wirksam ist als die d-Form. Nicht mit gleicher Deutlichkeit ließ sich dieser Befund für die d-Form und das Racemat des primären Amins erheben. Dagegen betrug die Differenz der letalen Dosen bei den tertiären Aminen über 100%. Weiterhin waren das d-1-(p-Aminophenyl)-2-methylamino-propan (XXI) und das l-Ephedrin in bezug auf die Toxizität wirksamer als die Racemate, wenn auch insbesondere bei letzterem die Unterschiede wenig groß waren.

Zu den Prüfungen wurden etwa 350 Ratten benutzt, so daß Zufälligkeiten und Schwankungen nach Möglichkeit ausgeschaltet waren. Die Berechnung der letalen Dosis erfolgte ebenso wie bei den früheren Prüfungen nach der Kärberschen Formel. Wenn in bezug auf die Toxizität gewisse Unterschiede zwischen den Isomeren festzustellen waren, so ergaben die vergleichenden Untersuchungen am Blutdruck der Katze keinerlei verwertbare Unterschiede. Die Kurven von Abb. 14 und 15

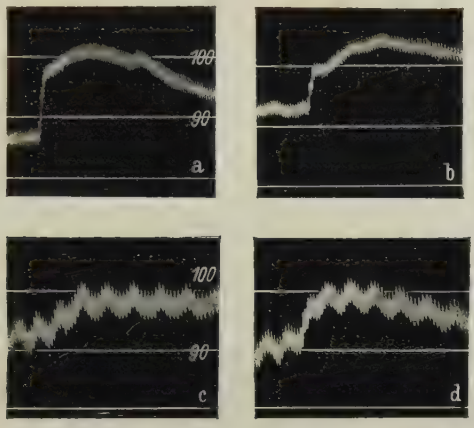


Abb. 14.
a) d-1-Phenyl-2-amino-propan;
b) dl-1-Phenyl-2-amino-propan;
c) dl-1-Phenyl-2-dimethylamino-propan;
d) l-1-Phenyl-2-dimethylamino-propan.

Abb. 15.
Links: 0,02 mg/kg l-1-Phenyl-2-methylamino-propan.
Mitte: 0,02 mg/kg d-1-Phenyl-2-methylamino-propan.
Rechts: 0,02 mg/kg dl-1-Phenyl-2-methylamino-propan.

zeigen, daß die Steigerungen des Druckes durch sämtliche Isomeren praktisch gleich sind.

Anders hingegen waren die Befunde bei der Prüfung der zentralerregenden Wirkung dieser Körper im Versuch an der Maus im Zitterkäfig. Hier wurde bei einigen Isomeren ein immerhin beachtlicher Unterschied in der Stärke der zentralen Beeinflussung gefunden, der nebenbei auch schon im Ablauf des Wirkungsbildes an der Ratte angedeutet war. Am deutlichsten waren diese Unterschiede bei dem sekundären und tertiären Amin, weniger stark dagegen bei dem primären 1-Phenyl-2-amino-propan.

Ebenso lag auch die minimal erregende Dosis des d-l- und l-Ephedrins so hoch, daß zwar Unterschiede wahrscheinlich sind, diese jedoch nicht mit voller Sicherheit herausgestellt werden konnten, zumal bei diesen Dosen die Beeinflussung des Kreislaufs erheblich und nicht ohne Bedeutung für den zentralen Effekt sein dürfte. In anderen Prüfungen, so am isolierten Darm, am Herzen, am Bronchospasmus u. a. konnten zwischen den optischen Isomeren keine weiteren Unterschiede festgestellt werden.

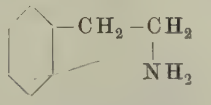
Die vorliegenden Untersuchungen ließen in einigen Fällen ein unterschiedliches Verhalten der optischen Isomeren erkennen, und zwar war, wie eingangs gefordert, die stärkere pharmakologische Aktivität stets bei der d-Form der betreffenden hydroxylfreien Substanzen zu finden, während das Racemat oder die in einem Fall noch mitgeprüfte l-Form sich durch geringere Wirksamkeit auszeichneten. Beachtenswert scheint die Tatsache, daß sich neben Unterschiedlichkeiten in der Toxizität auch noch solche in bezug auf die zentrale Wirksamkeit feststellen ließen. Für das Ephedrin konnten die Befunde von Pak und Read (26) bestätigt werden, die in toxikologischer Hinsicht für das l-Ephedrin zum d-l-Ephedrin ein Verhältnis wie 100 zu 78 fanden. Unterschiede in der zentralen Wirksamkeit waren besonders stark bei den optischen Isomeren der sekundären und tertiären Amine (VII, XI); sie scheinen auch bei dem Ephedrin noch vorhanden zu sein. Toxikologische Unterschiede zwischen der d- und der d-l-Form des primären Amins ließen sich nicht mit Sicherheit feststellen, während diese bei den sekundären und tertiären Aminen deutlich waren. Die Einführung einer p-ständigen Aminogruppe in den Phenylkern des 1-Phenyl-2-methylamino-propans ließ die toxikologischen Unterschiede zwischen den optischen Isomeren weiter bestehen. Die Methodik gestattete jedoch nicht, in diesen Fällen Unterschiede in der zentralen Wirksamkeit zu erfassen, da diese Dosen ähnlich wie bei dem Ephedrin recht hoch und im Bereich sehr starker Kreislaufbeeinflussung liegen.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

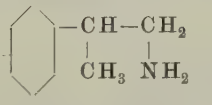
In den vorliegenden Untersuchungen wurde gezeigt, daß neben dem von Barger und Dale als Grundkörper der biogenen Amine bezeichneten β-Phenyläthylamin auch dem nächsthöheren Homologen dieser Reihe, dem β-Phenylisopropylamin (= 1-Phenyl-2-amino-propan), noch bedeutendere pharmakologische Wirkungen zukommen und daß dieser Körper zumindest in seinem allgemein-pharmakologischen Verhalten wesentlich aktiver ist als das β-Phenyläthylamin. Es ist also irreführend, wenn in der Literatur niedergelegt ist, das „Phenylpropylamin" sei dem β-Phenyläthylamin unterlegen und Verlängerung der Seitenkette des β-Phenyläthylamins wirke abschwächend. Es handelt sich bei diesem „Phenylpropylamin" vielmehr um das mit γ-ständiger Aminogruppe, d. h. um das 1-Phenyl-3-amino-propan. Unter Berücksichtigung der neuen Kenntnisse kann man

nur sagen, daß mit weiterem Abrücken der Aminogruppe vom Benzolkern Abschwächung eintritt, nicht dagegen bei Verlängerung der optimalen zweigliedrigen Seitenkette um ein Kohlenstoffatom überhaupt. [Da das β-Phenyläthylamin ebenso wie das β-Phenylisopropylamin keine echte sympathomimetische Wirkung wie etwa das Adrenalin besitzt, kann man ohnehin bei beiden Körpern nur mit Einschränkung von optimaler Wirkung in bezug auf den sympathomimetischen Effekt sprechen (Raymond-Hamet (29))].

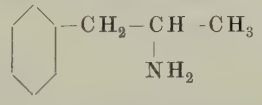
Wenn also die Blutdruckwirksamkeit, die Toxizität und allgemeine Wirkungsintensität des β-Phenylisopropylamins die des β-Phenyläthylamins weit übertrifft, so wird, wie gezeigt werden konnte, diese Diskrepanz unter Berücksichtigung der oralen Wirksamkeit noch größer; verhalten sich doch die letalen Dosen bei oraler Verabreichung wie 5 : 80. Obwohl schon Guggenheim und Löffler (5) auf die geringe orale Wirksamkeit des β-Phenyläthylamins hinwiesen, und Loewe (30) die geringe Wirksamkeit der Nebennierenkörper bei peroraler Zufuhr experimentell begründete, geht die allgemeine Ansicht dahin, die rasche Zerstörbarkeit und daher Flüchtigkeit der Wirkung des Adrenalins und seiner näheren Verwandten den leicht angreifbaren Hydroxylgruppen des Benzolringes zur Last zu legen. Die Wirkungsdauer muß dann nach Kreitmair (31) zunehmen mit Abnahme der OH-Gruppen: Adrenalin (= dioxyphenyl ...) — Thyramin (= oxyphenyl ...) — Ephedrin (= phenyl ...). Die Richtigkeit dieser Rangordnung ist erwiesen; jedoch ist die Wirkungsdauer des eigentlich logischerweise als Endglied statt des Ephedrins in diese Reihe gehörigen β-Phenyläthylamins kürzer als die des Ephedrins (eigene Versuche). Dieser Umstand weist bereits auf die Bedeutung der Seitenkette auch für die oralen Resorptions- und Wirkungsbedingungen und für die Wirkungsdauer überhaupt hin. In den vorliegenden Untersuchungen konnte zu diesen Fragen ein Beitrag gebracht werden, denn es wurde die orale Wirksamkeit folgender Körper und auch der entsprechenden sekundären Amine geprüft:



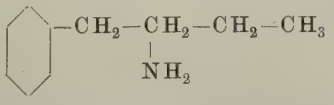
1-Phenyl-2-amino-äthan (I),



1-Phenyl-1-methyl-2-amino-äthan (IX),



1-Phenyl-2-amino-propan (II),

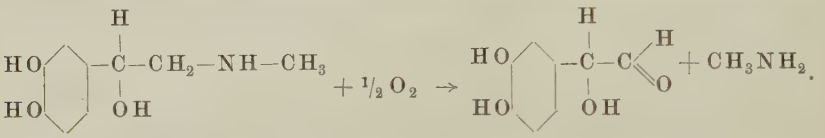


1-Phenyl-2-amino-butan (III).

Da I und IX schlecht wirksam, II und III dagegen gut und auch das 1-Phenyl-3-amino-propan [Lumière (21)] schlecht wirksam sind und analoge Befunde auch bei den entsprechenden sekundären Aminen zu erzielen waren, scheint die Zahl der H-Atome des der Aminogruppe zugehörigen

Kohlenstoffatoms der Seitenkette von Wichtigkeit zu sein. Weiterhin spielt noch die Länge der Seitenkette, Einführung von OH- oder NH_2-Gruppen, Belastung des Stickstoffs usw. auch für die orale Wirksamkeit eine Rolle.

Bekanntlich ist im Darm, Leber und den verschiedensten Geweben der Säugetiere ein Fermentsystem enthalten, das die Oxydation von Adrenalin und ähnlichen Aminen beschleunigt (H. Blaschko, D. Richter und H. Schlossmann (32)]. Diese Aminoxydasen bauen das Adrenalin im Sinne einer oxydativen Desaminierung ab, wobei die Produkte des Abbaus zunächst ein Aldehyd und Methylamin sind:



Es ist ersichtlich, daß bei diesem Abbauprozeß das der Aminogruppe zugehörige Kohlenstoffatom der Seitenkette (β-Kohlenstoff) von Bedeutung ist. D. Richter (33) konnte kürzlich nachweisen, daß Amine vom Typus

$$RCH_2{-}NH_2$$

im obigen Sinne schnell abgebaut werden, während diejenigen vom Typus

$$RR'CH{-}NH_2$$

unzerstört im Urin wieder erscheinen. Die eigenen Beobachtungen bestätigen diese Bedeutung des sekundären Kohlenstoffatoms für die intravitale Entgiftung der Phenylalkylamine.

Bezüglich der Toxizität und Blutdruckwirksamkeit konnte gezeigt werden, daß in Analogie zu den Verhältnissen bei den entsprechenden Phenyläthylaminen sich die primären und sekundären Propylamine in ihrer Wirksamkeit nur wenig unterscheiden, dagegen das tertiäre Amin von sprunghaft geringerer Toxizität und dabei größerer spasmolytischer Wirksamkeit ist.

Eine Gesetzmäßigkeit einiger geprüfter Körper scheint ferner bezüglich der Wirksamkeit auf das isolierte Warmblüterherz zu bestehen. Auch hier wurde den oben auf S. 675 angegebenen Verbindungen besondere Aufmerksamkeit geschenkt und festgestellt, daß mit Verlängerung der Seitenkette vom Phenyläthylamin zum Pentylamin hin eine Verstärkung der Herzgiftigkeit Hand in Hand geht. Durch β-Phenyläthylamin und auch noch durch β-Phenylpropylamin können bei geeigneter Dosierung und unter gewissen Bedingungen positive Wirkungen im Sinne einer Vergrößerung der Amplituden erzielt werden, weniger sicher oder gar nicht mit den nächsthöheren Homologen.

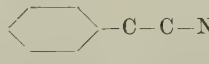
Besonders auffallend erscheint, daß in der genannten Versuchsanordnung das Phenyläthylamin und seine nächsten Verwandten stets — auch bei negativ inotroper Wirkung — eine positiv chronotrope Wirkung zeigten, während die Propylamine und die höheren Homologen vor Einsetzen der positiv chronotropen Wirkung eine Phase starker Frequenz-

verminderung aufwiesen. Diese negativ chronotrope Phase tritt nicht auf, wenn in das Molekül der Propylamine eine Hydroxylgruppe, gleichgültig ob im Kern, in der Seitenkette oder am N-Substituenten, eingeführt wird.

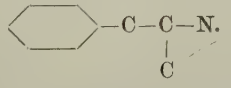
Es ist bekannt, daß eine gewisse herzschädigende Komponente, die auch dem Adrenalin gelegentlich zukommt, mit Entfernung der Oxygruppen stärker hervortritt [Hildebrand und Mügge (34), Mügge (35)]. Die vorliegenden Befunde bestätigen dies und weisen zugleich darauf hin, daß die Länge der Seitenkette nicht ohne Bedeutung ist.

Airila (36) und Morita (37) wiesen als erste tierexperimentell die zentralanaleptischen Wirkungen des Ephedrins an chloralhydratnarkotisierten Kaninchen nach. Heute sind die Ansichten über die therapeutische Verwertbarkeit dieser zentralanaleptischen Wirkung auseinandergehend. Auf jeden Fall haften dem Ephedrin deutlich derartige Wirkungen an, und sie können auch bei dem β-Phenyläthylamin und anderen Derivaten nachgewiesen und beobachtet werden. Unter den Phenyläthylaminen ragen als bevorzugt zentral angreifende Mittel das Mescalin [Heffter (38)] und auch das hierher gehörende β-Tetrahydronaphthylamin (39) heraus. Dem β-Phenylisopropylamin wurde, obgleich bereits von Barger und Dale auf seine sympathomimetischen Wirkungen hin geprüft, erst vor wenigen Jahren durch die pharmakologischen Untersuchungen von G. A. Alles (40) und die klinischen Versuche von Prinzmetal und Bloomberg (41) Beachtung zuteil.

In den vorliegenden Untersuchungen konnten durch Messung der zentralmotorischen Wirksamkeit an der Maus zahlreiche Phenylalkylamine in quantitativer Hinsicht erfaßt und vergleichender Beurteilung unterworfen werden. Dabei stellten sich recht beachtliche Unterschiede in der zentralen Wirksamkeit heraus. Als optimale Struktur zur Erzielung eines charakteristischen zentralen Effektes wurde ebenfalls die für die sympathomimetische Wirksamkeit angegebene Grundform gefunden:

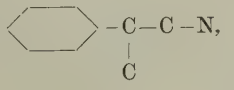


jedoch mit der Einschränkung, daß am C-2-Atom (β-) ein weiterer Kohlenstoff angegliedert sein muß:



Die Einführung von OH- oder NH_2-Gruppen oder zunehmende Belastung des Stickstoffs vermindern die zentrale Wirkung.

Von besonderem Interesse war das Verhalten der Körper IX, X und XXIII vom Typus



die ja mit den stark zentral wirkenden Substanzen II und III isomer sind. Hier fiel vor allem die äußerst geringe orale Wirksamkeit auf, die noch geringer ist als die des β-Phenyläthylamins. In ihrem Verhalten ähnelten diese Präparate durchaus dem β-Phenyläthylamin, die typischen zentralen Wirkungen von II und VII waren nicht mehr vorhanden. Es scheint also auch vom pharmakologischen Standpunkt aus durchaus berechtigt, die Körper IX, X und XIII als Phenyläthylderivate zu bezeichnen, denn sie schließen sich in ihrem Verhalten durchaus an das β-Phenyläthylamin an, während die β-Phenylisopropylamine sich durch den stark ausgeprägten zentralen Effekt, andere Eliminationsbedingungen und damit Hand in Hand gehend durch starke anhaltende Wirksamkeit per os grundsätzlich unterscheiden.

Bezüglich der Atemwirksamkeit wurde gefunden, daß die Einführung einer Amino- oder Hydroxylgruppe in para-Stellung die Atemwirksamkeit stark vermindert, gleichgültig ob es sich um Phenyläthylamine oder Phenylpropylamine handelt.

Die spasmolytischen Eigenschaften der geprüften Körper sind in qualitativer und quantitativer Hinsicht wenig differierend. Mit Verlängerung der Seitenkette nimmt die spasmolytische Aktivität in geringem Ausmaße zu. Substitution von Alkylgruppen am N führt gleichfalls zu vermehrter Aktivität. Gegenüber dem primären β-Phenylisopropylamin (II) besitzt das sekundäre Amin eine nur unbedeutend stärkere, das tertiäre Amin eine wesentlich stärkere Wirksamkeit. N-Phenyl- und besonders Benzylsubstitution führen zu einer beachtlichen Steigerung der spasmolytischen Wirksamkeit. Vergleicht man diese Befunde mit den in der Literatur beschriebenen Eigenschaften der entsprechenden und vielfach geprüften OH-haltigen Amine vom Ephedrintypus [Mukerji (42), Patek und Thienes (43)] u. a., so findet man in der Reihe der Isopropylamine ein analoges Verhalten.

Bei der Prüfung der optischen Isomeren konnte mit Sicherheit ein in dosismäßiger Hinsicht verschiedenes Verhalten einiger Amine nachgewiesen werden. Während in der Ephedrinreihe den linksdrehenden Formen eine größere Wirksamkeit zukommt, wurde bei den Phenylisopropylaminen stereochemischen Forderungen entsprechend die rechtsdrehende Form als die aktivere Komponente gefunden. Unterschiede konnten insbesondere bezüglich Toxizität, zentraler Wirksamkeit und Wirkungsbreite festgestellt werden. Die Blutdruckwirksamkeit war jedoch bei den optischen Isomeren durchweg gleich, und es scheint auch für das Ephedrin (s. Schaumann, Kreitmair) ein verschieden starkes zentrales Verhalten der optischen Komponenten bei gleicher Blutdruckwirksamkeit zu bestehen.

Durch die freundliche Aufmerksamkeit von Herrn Prof. Heubner gelangte mir bereits nach der Zusammenschrift dieser Versuchsergebnisse eine Publikation von G. A. Alles (44) zur Kenntnis, in der die vorliegenden Ergebnisse über die optisch aktiven Komponenten des β-Phenylisopropyl-

amins, über die ich in Kürze bereits früher berichtete (45), bestätigt werden. Alles fand ebenfalls eine stärkere zentrale Wirksamkeit des rechtsdrehenden β-Phenylisopropylamins, während für die Beeinflussung des Blutdrucks und für die spasmolytische Wirksamkeit keine Unterschiede festgestellt werden konnten.

Zusammenfassung.

27 Phenylalkylamine verschiedenster Konstitution und zum Teil deren optische Isomere wurden einer vergleichenden pharmakologischen Prüfung unterworfen, wobei der Toxizität per os und per injectione, der Kreislaufwirksamkeit, den zentralen Erscheinungen sowie der optischen Aktivität besondere Aufmerksamkeit gewidmet wurde.

Es konnte gezeigt werden, daß die Verlängerung der scheinbar „optimalen zweigliedrigen" Kette des β-Phenyläthylamins um ein Kohlenstoffatom zu einer wesentlichen Verstärkung der allgemeinen pharmakologischen Aktivität führen kann und daß die charakteristischen zentralerregenden Wirkungen an die Grundform des β-Phenylisopropylamins gebunden sind.

Die Bedingungen der intravitalen Elimination und Entgiftung der Adrenalin- und Ephedrinkörper sind weniger abhängig von den Hydroxylgruppen, als vielmehr von der Gegenwart eines sekundären Kohlenstoffatoms in der Seitenkette, an welchem sich die Aminogruppe befindet. Alle geprüften Substanzen mit der Konfiguration $R{-}CH_2{-}NH_2$ sind per os schlecht wirksam und werden intravital schnell entgiftet, während sich solche mit der Konfiguration $RR'{-}CH{-}NH_2$ durch besonders anhaltende und gute orale Wirksamkeit auszeichnen.

Primäre und sekundäre Amine unterscheiden sich in ihrer pharmakologischen Wirksamkeit weniger voneinander, während die tertiären Amine von geringerer allgemeiner Aktivität, jedoch größerer spasmolytischer Wirksamkeit sind.

Am Warmblüterherzen konnte die Bedeutung der Länge der Seitenkette sowie die von Substituenten, wie etwa der OH- oder NH_2-Gruppe, für die Herzwirksamkeit gezeigt werden. Verlängerung der Seitenkette verstärkt die Herzgiftigkeit und die Tendenz zur Verengerung der Coronargefäße. Die Phenyläthylamine zeichnen sich vor den Propylaminen durch eine positiv chronotrope Wirkung aus.

Einführung einer Aminogruppe in para-Stellung vermindert die allgemeine Aktivität der Substanzen und vor allem die zentralen und atemanregenden Wirkungen.

Starke Belastung des Stickstoffs führt zum Verschwinden der zentralen Wirkungen, verstärkt jedoch, insbesondere bei Einführung einer Benzylgruppe, die spasmolytische Wirksamkeit.

Bei einigen optischen Isomeren konnte ein verschiedenes Verhalten in bezug auf bestimmte Funktionen gefunden werden. Es ließ sich zeigen, daß entsprechend der stereochemischen Forderung die rechtsdrehenden

Phenylaminopropane die wirksameren Komponenten sind und Unterschiede in der Toxizität und zentralen Wirksamkeit bestehen.

Sowohl für die unsubstituierten Phenyl-äthylamine und -propylamine wie auch für deren zahlreiche Derivate gelten bezüglich der Konstitution und pharmakologischen Wirkung gewisse Gesetzmäßigkeiten.

Literatur.

1) Schaumann, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 127 (1931). — 2) Barger u. Dale: J. Physiol. (Brit.) **41**, 19 ff. (1910/11). — 3) Loewe, S.: Z. exper. Med. **6**, 335 (1918). — 4) Bry, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **16**, 186 (1914). — 5) Guggenheim u. Löffler: Biochem. Z. **72**, 325 (1916). — 6) Hauschild, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 465 (1938). — 7) Detrick, L. E., R. Millikan, F. S. Modern u. Ch. Thienes: J. Pharmacol. (Am.) **60**, 56 (1937). — 8) Walpole: Trans. chem. Soc. **79**, 941 (1910). — 9) Camus, L. Arch. int. Pharmacodynam. **16**, 43 (1906). — 10) Curtis, F. R.: J. Pharmacol. (Am.) **35**, 321 (1928). — 11) Chen, Chang-Keng Wu u. Henriksen: Ebenda **36**, 363 (1929). — 12) Bun-ichi-Hasama: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **153**, 161, (1930) — 13) Dulière, W.: C. r. Soc. Biol. **96**, 1067 (1927). — 14) Pak, C., u. B. E. Read: Quart. J. Pharmacy a. Pharmacol. **9**, 235 (1936). — 15) Gordon u. Alles: J. Pharmacol. (Am.) **32**, 121 (1928). — 16) Barbour u. Fränkel: Ebenda **7**, 511 (1915). — 17) Kärber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162**, 480 (1931). — 18) Kreitmair, H.: Ebenda **187**, 607 (1937). — 19) Killian: Z. exper. Med. **100**, 432 (1937). — 20) Jacobsen, E., J. Tind Christensen, F. Eriksen u. Jens Hald: Scnad. Arch. Physiol. **79**, 258 (1938). — 21) Lumière u. Paul Meyer: C. r. Soc. Biol. **128**, 678 (1938). — 22) Kiese: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 342 (1935). — 23) Tiefensee: Ebenda **139**, 129 (1929). — 24) Schaumann, O. Ebenda **138**, S. 208 (1928). — 25) Kreitmair, H.: Ebenda **143**, 358 (1929). — 26) Pak, C., u. B. E. Read: Chin. J. Physiol. **1928**, Bd. II. — 27) Lindner, W., u. K. Göpfert: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 673 (1938). — 28) Metz, O.: Klin. Wschr. **1939**, II. — 29) Raymond-Hamet: C. r. Acad. Sciences **192**, 1291 (1931). — 30) Loewe, S., u. M. Simon: Z. exper. Med. **6**, 327 (1918). — 31) Kreitmair, H. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **120**, 190 (1927). — 32) Blaschko, H., D. Richter u. H. Schlossmann: Biochem. J. **31**, 2187 (1937). — 33) Richter, D.: Ebenda **31**, 2022 (1936). — 34) Hildebrand u. Mügge: Klin. Wschr. **1931**, S. 291. — 35) Mügge: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **165**, 230 (1932). — 36) Airila, J.: Arch. internat. Pharmacodynam. **23**, 453 (1913). — 37) Morita, S.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **78**, 218 (1915). — 38) Heffter, A.: Ebenda **40**, 420 (1898). — 39) Mutch u. Pembrey: J. Physiol. (Brit.) **43**, 109 (1911). — 40) Alles, G. A.: J. Pharmacol. (Am.) **47**, 339 (1933). — 41) Prinzmetal u. Bloomberg: J. amer. med. Assoc. **105**, 2051 (1935). — 42) Mukerji: Chin. J. Physiol. **13**, 339 (1938). — 43) Patek u. Thienes: Arch. internat. Pharmacodynam. **49**, 432 (1935). — 44) Alles, G. A.: University of California Public. in Pharmacol., Vol. 1, Nr. 11, p. 129—150 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.
(Direktor: Prof. Dr. Ernst Frey.)

Einfluß von Säure und Alkali auf die Vergiftung des Muskels durch Phenol und Thymol*.

Von
Hans Lutz.

(Eingegangen am 11. Juli 1940.)

Einleitung.

Die Löslichkeit in Wasser spielt bei der Wirkung vieler Stoffe insofern eine Rolle, als die geringere Wasserlöslichkeit zu einer Verstärkung der Wirkung führt, wie dies die Untersuchungen der narkotischen Wirkung homologer Reihen, z. B. von Alkoholen, erwiesen haben. Auch bei der Wirkung schwacher Säuren und Basen zeigt sich der Einfluß der Löslichkeit; so bei der Giftwirkung der Alkaloide: Kaulquappen werden durch Strychnin bei Alkalizusatz rasch vergiftet, bei Laugenzusatz bleibt die Vergiftung aus, weil die wasserunlösliche Strychninbase schnell die Zellhaut durchdringt, das gut wasserlösliche Salz aber im Wasser verbleibt [Overton (1)]. Ebenso verstärkt Alkalizusatz die Wirkung der Lokalanaesthetica [Gros (2)]. — Auch bei der Wirkung schwacher Säuren, wie sie die Barbiturderivate darstellen, zeigt sich der Einfluß der Reaktion deutlich: Frey (3) fand die narkotische Wirkung von Veronal und Luminal am Darm bei alkalischer Reaktion außerordentlich gering, während sie mit Verschiebung nach der sauren Seite stark zunahm. Auch am ganzen Tier ließ sich der Einfluß der Reaktionslage des Tieres auf die Luminalnarkose zeigen: schon Änderungen der Kost genügten, um bei dem Tier mit saurem Harn einen tieferen Schlaf hervorzurufen, als bei einem Tier mit alkalischem Harn. Noch deutlicher wurden die Unterschiede, wenn man Säure oder Alkali medikamentös zuführte; diese Versuche wurden an denselben Kaninchen wechselseitig angestellt.

Da nun auch die Löslichkeit von Phenol und Thymol bei verschiedener Reaktion Unterschiede aufweist, indem die alkalischen Lösungen durch Bildung von Phenolat und Thymolat diese Stoffe besser lösen als reines Wasser oder saure Lösungen, wurde die Wirkung der Stoffe bei verschiedener Reaktion geprüft.

Methode.

Als Objekt zur Prüfung der Wirkung diente der Sartorius des Frosches, an dem sich das Einsetzen einer Lähmung in zeitlicher Hinsicht, die allmähliche Verkleinerung der Zuckung und auch eine Änderung der Er-

* D 2.

schlaffung z. B. in Form einer einsetzenden Kontraktur gut beobachten ließ. Dabei wurden einmal die Stoffe in ihrer Wirkung auf Einzelreize, die alle 5 Minuten appliziert wurden, untersucht, das andere Mal an Ermüdungsreihen, wo alle 5 Minuten eine Serie von Einzelreizen in schneller Folge, und zwar 80 in der Minute, angewandt wurden. Die Reize waren maximale Öffnungsinduktionsschläge unter Abblendung der Schließungsschläge; die Reizung geschah in Luft. Bei den Ermüdungsreihen haben wir den Öffnungsschlag erst dem einen Muskel zugeführt, dann dem anderen, so daß die beiden Sartorien eines Frosches in demselben Stromkreis lagen; sie schrieben ihre Zuckungen auf derselben Trommel übereinander auf. Die Kurven wurden ausgemessen und in Prozent der Höhe der Anfangszuckung angegeben. Trat eine Kontraktur ein, so wurde von dem neuen Nullpunkt an gemessen. Auch die Kontraktur ist in Prozent der Höhe der Anfangszuckung angeführt. — Die verschiedenen Säurestufen wurden nach Rhode und Saito (4) als Pufferlösungen hergestellt und ihr p_H mit dem Wulffschen Folienkolorimeter kontrolliert.

Wirkung von Luminal-Natrium bei verschiedener Reaktion. Als Gegenbeispiel Wirkung von Novokain bei verschiedener Reaktion.

Um auch an dem Objekt dieser Untersuchung, dem Froschmuskel, die verschiedene Wirkung des Luminals je nach der Reaktion der Lösung zu beobachten, wurden die beiden Sartorien in eine Luminallösung von 0,125% Luminal-Na gehängt; sie schrieben ihre Zuckungen übereinander auf, wurden alle 5 Minuten mit Öffnungsinduktionsschlägen gereizt, deren Frequenz 80 in der Minute betrug. Der Muskel der oberen Kurve lag in der Luminallösung vom p_H 8,9, der der unteren Kurve vom p_H 4,7. Die Höhe der Zuckung in % der Anfangshöhe.

Luminal-Na 0,125%.

Oben $p_H = 8{,}9$; unten $p_H = 4{,}7$.

100—97—102—86—18—0—
100—91— 2— 0— 0—0—

Es zeigte sich also auch am Froschschenkel die schützende Wirkung des Alkalis bei der Luminalvergiftung. Das in Wasser gut lösliche Luminalnatrium legt sich schlechter an die organischen Bestandteile des Muskels an, während in saurer Lösung das schlecht lösliche Luminal an andere Stellen flüchtet, wo es bessere Löslichkeitsbedingungen findet.

Als Gegenbeispiel wurde Novokain-HCl angewandt, bei dem, wie bekannt, Alkalizusatz die Wirkung verstärkt [Gros (2)]; zugleich ein Beweis, daß nicht die Reaktion an sich die Lähmung bedingt.

Novokain-HCl 0,005%.

Oben: $p_H = 8{,}9$; unten $p_H = 4{,}7$.

100—32— 0— 0—0—0—
100—88—59—23—6—3—

Zum Schluß der Kontrollen haben wir die schädigenden Wirkungen der hier angewandten Höchstbeträge der Alkaleszenz und Säuerung miteinander verglichen; sie sind ungefähr gleich groß.

Ohne Giftzusatz.

Oben: $p_H = 8{,}9$; unten: $p_H = 4{,}7$.

100—100—70—60—50—50—40—

100— 88—88—83—70—65—60—

Phenol.

Löslichkeit von Phenol bei verschiedener Reaktion.

Die Löslichkeit des Phenols nimmt mit zunehmender Alkalinität der Lösungen, und zwar sprungartig bei p_H 13,6 zu. Wenn man in der Tabelle die Mischungen unterstreicht, welche gerade klar bleiben, so erhält man eine Art Kurve, welche die Löslichkeitsverhältnisse deutlich zeigt. Es ist merkwürdig, daß sich eine deutliche Löslichkeitszunahme erst bei sehr starkem Alkalizusatz einstellt; im Gegensatz dazu werden wir sehen, daß schon sehr viele geringere Schwankungen der Reaktion, wie sie der Muskel verträgt, Ausschläge in der Wirksamkeit gibt, daß also schon in schwächerem Alkali sich die Löslichkeitsvermehrung geltend machen muß. Man geht wohl nicht fehl, anzunehmen, daß eben nicht die reine Wasserlöslichkeit eine Rolle spielt, sondern die Verteilung des Giftes auf Wasser und eine andere Phase, etwa so wie es die Lipoidtheorie der Narkose annimmt. Man denke an die Versuche von Binz (5), der zeigte, daß man zwar durch Kohlensäure die Salizylsäure aus Lösungen von Natriumsalizylat nicht austreiben (ausfällen) kann, wohl aber, sobald man ihr eine Ausweichstelle in Gestalt von Äther darbietet. Daher ist auch der Ein-

Tabelle 1. Löslichkeit von Phenol in Wasser bei 20°.

Phenol liquidum.

ccm Phenol zugesetzt:			0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0	6,0
% Phenol (Endlösung):			5	9	13	16,6	20	23	26	28	31	33	38
ccm n NaOH	+ ccm H_2O	= p_H											
0	10	7	**kl.**	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
0,000 01	10	8	**kl.**	?	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
0,000 1	10	9	**kl.**	?	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
0,001	10	10	**kl.**	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
0,01	10	11	**kl.**	?	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
0,1	10	12	**kl.**	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
1,0	9	13	kl.	**kl.**	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
2,0	8	13,3	**kl.**	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
3,0	7	13,47	kl.	**kl.**	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
4,0	6	13,6	kl.	kl.	**kl.**	**kl.**	**kl.**	**kl.**	**kl.**	**kl.**	**kl.**	tr.	tr.
5,0	5	13,7	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	**kl.**	tr.
10,0	0	14	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	**kl.**

kl. = klar; tr. = trüb.

wand von Salzer und Fischer (6) gegen die Ansicht von Frey (3) von der Verhinderung der Luminalnarkose durch Alkaligaben an Tiere nicht stichhaltig, daß ja die geringe Änderung der Reaktion im Blute kaum das Verhältnis von Veronal zu Veronalnatrium verschiebe, wie sich aus der p_H-Kurve von Mischungen beider Stoffe ergebe; es kommt eben auf die Verteilung dieser Narkotica an, bei alkalischerer Reaktion des Blutes bleibt mehr davon im Blute und legt sich weniger an die Gewebe an, und die von den Autoren festgestellte Mehrausscheidung von Veronal bei Alkaligaben ist nicht die Ursache der geringeren narkotischen Kraft, sondern die verminderte Festlegung im Gewebe ist die Ursache nicht nur der verminderten Wirkung, sondern auch die Ursache der vermehrten Ausscheidung.

Einzelreize nach Phenol.

Die Erfolge der Phenolvergiftung des Muskels sind außerordentlich verschieden; schon bei derselben Reaktion kommen starke Abweichungen der Werte untereinander vor, sowohl hinsichtlich der Zeit bis zum Eintritt der vollständigen Lähmung, wie auch hinsichtlich der Höhe der Zuckungen. So lassen sich bündige Schlüsse aus diesen Versuchen kaum ziehen; man sieht, daß bei stark saurer Reaktion die Lähmung einmal schon nach 5 Minuten eingetreten ist, daß dies sich auch einmal bei neutraler Reaktion ereignete. Bei alkalischer Reaktion ist die Lähmung zwar niemals nach 5 Minuten erfolgt, aber bei einer großen Anzahl von Versuchen schon nach 10 Minuten. Nach dieser Zeit ist bei der überwiegenden Zahl der Versuche in neutraler Lösung die Zuckung bei gleichem Phenolgehalt noch ausgezeichnet. Nimmt man den Durchschnitt, so ergibt die Zuckungshöhe nach 0, 5, 10 und 15 Minuten, in saurer Lösung: 100—54—32—14, in neutraler: 100—90—64—25 und in alkalischer: 100 -70—11—6. Im allgemeinen tritt in alkalischer Lsöung die Lähmung schneller ein, aber die Höhe der Zuckung wird zunächst weniger herabgesetzt. In saurer Lösung wird die Zuckungshöhe sehr schnell erniedrigt, aber es vergeht längere Zeit bis zur vollständigen Lähmung. Es kommt natürlich bei diesen Versuchen viel auf die Dicke der Sartorien an, so daß es besser ist, immer die beiden Sartorien eines Frosches zu vergleichen; dies ist in den folgenden Versuchen geschehen.

Jedenfalls hat sich ein Schutz der alkalischen Reaktion gegen die Phenolvergiftung bei Einzelreizen nicht erweisen lassen.

Phenolvergiftung bei Ermüdungsreihen.

Sieht man von den hohen Konzentrationen ab, die schnell zur Lähmung führen, so zeigen die Versuche deutlich, daß in der basischen Lösung Phenol sehr viel weniger giftig ist als in saurer; es tritt bei saurer Reaktion die Lähmung sehr viel schneller ein und es leidet die Zuckungshöhe stärker als in alkalischer Lösung.

Tabelle 2.

Phenol 0,1 %. Einzelreize alle 5 Minuten. Höhe der Zuckung in % der Anfangshöhe. Kontraktur tritt nicht auf.

p_H	Lähmung nach Min.	Höhe nach Min.			
		0	5	10	15
4,7	65	100	24	9	5
4,7	35	100	19	8	4
4,7	5	100	0	0	0
4,7	10	100	39	0	0
6,3	mehr als 145	100	99	59	29
6,2	„ „ 165	100	92	73	32
6,45	„ „ 125	100	105	77	31
6,85	„ „ 130	100	100	62	25
6,85	„ „ 120	100	93	72	28
6,85	„ „ 120	100	119	106	54
6,85	65	100	120	110	72
6,85	30	100	104	32	17
6,85	30	100	115	114	18
7,0	125	100	103	82	34
7,0	5	100	0	0	0
7,0	15	100	36	40	0
7,0	15	100	91	5	0
7,3	155	100	87	58	18
7,3	155	100	117	88	38
7,8	170	100	105	66	45
7,8	10	100	6	0	0
7,8	6	100	21	0	0
8,9	6	100	1	0	0
8,9	8	100	63	0	0
8,9	10	100	62	0	0
8,9	10	100	107	0	0
8,9	15	100	72	6	0
8,9	10	100	51	0	0
8,9	70	100	118	42	11

Es geht also aus diesen Versuchen, die gut vergleichbar sind, weil beide Sartorien desselben Frosches in derselben Phenolkonzentration lagen, nur bei verschiedener Reaktion, hervor, daß die alkalische Reaktion, welche die Löslichkeit des Phenols in Wasser erhöht, seine Giftigkeit herabsetzt.

Tabelle 3. Phenolvergiftung. Ermüdungsreihen.

Ermüdungsreihe, Reizserie alle 5 Minuten. Höhe der ersten Zuckung jeder Reihe in % der Anfangshöhe. Beide Sartorien schreiben übereinander.

Phenol 0,1 %.

Oben: $p_H = 7{,}3$; unten: $p_H = 6{,}3$.

100— 14—0
100—119—0

Phenol 0,075 %.

Oben: $p_H = 8{,}9$; unten: $p_H = 4{,}7$.

100—114—86—0
100—120—92—0

Tabelle 3 (Fortsetzung).

Phenol 0,05 %.

Oben: $p_H = 7{,}3$; unten: $p_H = 6{,}3$.

100—128—111—113—100—78—61—47—28—26—22—13—8—6—6—8
100—109—106—102— 88—54— 8— 2— 0— 0— 0— 0—0—0—0—0

Phenol 0,05 %.

Oben: $p_H = 7{,}3$; unten: $p_H = 6{,}3$.

100—105—111—110—126—71—13—7—0
100—108—116—125—113—71—17—0—0

Phenol 0,05 %.

Oben: $p_H = 8{,}9$; unten: $p_H = 4{,}7$.

100—113—116—116—105—105—78—45—35—26
100—126—133—118— 72— 0— 0— 0— 0— 0

Phenol 0,005 %.

Oben: $p_H = 8{,}9$; unten: $p_H = 4{,}7$.

100—100—93— 73— 60—53—47—33—40—40—33—33—33—27—27—27—27
100—106—97—117—106—37—17—17—10— 3— 3— 0— 0— 0— 6— 0— 0

Thymol.

Löslichkeit von Thymol in Wasser bei verschiedener Reaktion.

Wie beim Phenol nimmt auch beim Thymol bei einer bestimmten Grenze der Reaktion die Löslichkeit schnell zu. Beim Phenol lag diese Grenze bei 13,6, hier beim Thymol ist sie etwas mehr nach der sauren

Tabelle 4. Thymol-Löslichkeit in Wasser bei verschiedener Reaktion.

ccm Thymol (10 % in Alkohol) zugesetzt:			0,125	0,25	1,0	2,0	4,0	5,0
% Thymol in der Endlösung:			0,125	0,25	0,91	1,66	2,86	3,33
ccm n NaOH +	ccm H_2O	= p_H						
0	10	7	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
0,000 01	10	8	?	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
0,000 1	10	9	?	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
0,001	10	10	?	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
0,01	10	11	?	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
0,1	10	12	?	tr.	tr.	tr.	tr.	tr.
1,0	9	13	**kl.**	tr.	?	tr.	tr.	tr.
2,0	8	13,3	**kl.**	**kl.**	?	tr.	tr.	tr.
3,0	7	13,47	kl.	kl.	**kl.**	**kl.**	tr.	tr.
4,0	6	13,6	kl.	kl.	kl.	kl.	**kl.**	**kl.**
5,0	5	13,7	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.
6,0	4	13,78	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.
7,0	3	13,85	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.
8,0	2	13,9	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.
9,0	1	13,95	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.
10,0	0	14	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.	kl.

tr. = trüb; kl. = klar.

Bei stärkerem Thymolzusatz macht sich der Alkoholgehalt lösend geltend.

Seite verschoben; ferner ist der Löslichkeitsanstieg nicht ganz so steil wie beim Phenol. Auch hier zeigt sich wieder die Erscheinung, daß sich schon physiologische Unterschiede in der Wirkung bei Reaktionen ergeben, bei denen die Löslichkeit durch Betrachtung der Trübungen kaum eine Änderung erfährt. Es ist eben keine Frage der Wasserlöslichkeit an sich, ob diese Stoffe bei verschiedener Reaktion verschieden stark wirken, sondern eine Frage der Verteilung auf Wasser oder andere Lösungsmittel.

Thymol; Einzelreize.

Wenn man die Durchschnittszahlen für die Zeit bis zur vollständigen Lähmung bildet, so muß man die Versuche mit Konzentrationen von 0,001% Thymol weglassen, weil sie in der Beobachtungszeit noch keine Lähmung hervorriefen; dabei ergibt sich eine Zeit bis zur Lähmung in saurer Lösung von 78 Minuten, in neutraler von 70 Minuten und in basischer

Tabelle 5. Thymol; Einzelreize.

Alle 5 Minuten ein maximaler Öffnungsinduktionsschlag. Höhe der Zuckung in % der Anfangshöhe (in der Tabelle obere Zahl); bei den späteren Zuckungen, bei denen sich häufig eine Kontraktur einstellt, von dem neuen Nullpunkt aus gerechnet; die unteren Zahlen bedeuten die Höhe der Kontraktur ebenfalls in % der Höhe der Anfangszuckung.

p_H	% Thymol	Lähmung nach Min.	Nach Min.					
			0	20	40	60	80	120
5,5	0,001	mehr als 120	100	104	106	111	125	119
				0	0	0	0	0
5,5	0,0025	75	100	113	89	26	0	0
				13	59	104		128
6,3	0,0025	115	100	114	124	116	48	0
				6	31	58	73	88
5,5	0,005	60	100	74	24	0		
				82	128	145		
6,3	0,005	60	100	88	58	0		
				95	138	160		
6,85	0,001	mehr als 120	100	107	104	111	95	95
				0	0	0	0	0
6,85	0,0025	95	100	110	108	90	28	0
				4	46	102	140	156
6,85	0,005	50	100	51	4	0		
				105	139	146		
7,3	0,0025	75	100	91	78	24	0	
				9	48	69	76	
7,3	0,005	60	100	94	43	0		
				96	119	131		
8,3	0,001	mehr als 120	100	100	106	116	127	133
				0	0	0	0	0
8,3	0,005	60	100	93	51	0		
				93	171	206		

von 60 Minuten. Die etwas kurze Zeit bei Anwendung alkalischer Lösungen erklärt sich daraus, daß hier nur eine starke Konzentration angewandt wurde und daher die schwächer, d. h. in diesem Zusammenhange langsamer wirkenden Konzentrationen im Durchschnitt nicht auftreten. Es ergibt sich also kaum ein Unterschied in der Geschwindigkeit der Einwirkung.

Nimmt man die Höhe der Schlußkontraktur und bildet das Mittel, so ist dies deswegen gestattet, weil allemal in den verschiedenen Abschnitten gleichviel Versuche mit den einzelnen Konzentrationen angestellt wurden. Die Höhe der Schlußkontraktur beträgt bei saurer Reaktion 104% der Anfangszuckungshöhe, bei neutraler 102% und bei alkalischer 103%. Es ist also kein Unterschied festzustellen, sondern eine gleich starke Wirkung hinsichtlich der Kontrakturwirkung.

Bei Einzelreizen fehlt also jeder Einfluß der Reaktion auf die Vergiftungsgeschwindigkeit oder Vergiftungstiefe bei Thymol.

Thymol; Ermüdungsreihen.

Bei der Gegenüberstellung der beiden Sartorien eines Frosches in derselben Thymolkonzentration, aber bei verschiedener Reaktion, zeigt sich überall eine schnellere Wirkung in der Lösung, die saurer ist; es nimmt die Höhe der Zuckung schneller ab und die vollständige Lähmung tritt zeitiger ein. Besonders auffällig ist aber die Entwicklung der Kontraktur, die hier beim Thymol — im Gegensatz zum Phenol — sich jedesmal entwickelt. Sie erreicht immer in der sauren Lösung einen höheren Grad als in der basischeren. Im Durchschnitt beliefen sich die Kontrakturen am Ende der Beobachtungszeit in der sauren Lösung auf 127% der Höhe der Anfangszuckung, in der neutralen Lösung auf 75% und in der basischen auf 55%.

Bei den Ermüdungsreihen hat sich also eine deutliche Abschwächung der Thymolwirkung durch Alkali feststellen lassen.

Tabelle VI. Thymol; Ermüdungsreihen.

Reizserie (80 in der Minute) alle 5 Minuten. Höhe der Zuckung, und zwar der ersten jeder Serie vom neuen Nullpunkt aus, wenn sich eine Kontraktur ausgebildet hat (obere Zahlenreihe). Darunter die Größe der Kontraktur ebenfalls in % der Höhe der Anfangszuckung. Beide Sartorien schreiben übereinander.

Thymol 0,0025%.

Oben: $p_H = 7{,}3$; unten: $p_H = 6{,}3$.

100—103—112—115—127—133—121—118—118—112— 98— 82— 73— 45—21
0— 0— 0— 0— 3— 9— 15— 21— 30— 39— 45— 51— 69— 94—

100—103—121—136—142—140—133—127— 98— 70— 60— 64— 45— 27—12
6— 54— 39— 54— 66—109—151—184—190—203—218—233—245—

Oben: $p_H = 7{,}3$; unten: $p_H = 6{,}3$.

100—98— 82— 91— 60— 47— 42— 29— 20—13
5— 13— 45— 62— 77— 60— 61— 61

100—62— 43— 18— 3— 0— 0— 0— 0— 0—
48—107—128—131—125—136—131—131—

Tabelle 6 (Fortsetzung).

Oben: $p_H = 7{,}3$; unten: $p_H = 6{,}3$.

100—115—103—112—118— 91—118—87—61—12—9—
27— 69— 30— 51— 33— 23—23—27—27—

100—125—122—128—147—115—118—37— 3— 6—3—
6— 18— 0— 3— 0— 0— 0— 6— 6—

Oben: $p_H = 7{,}3$; unten: $p_H = 6{,}3$.

100—90—100—85—105—68—68— . . . nach 43 Min. =
22— 77— 84—45— 119

100—93— 84—68— 32—13— 3— . . . nach 43 Min. =
16— 32— 64— 177

Oben: $p_H = 8{,}9$; unten $p_H = 4{,}7$.

100—111—103—103—100— 68—
29— 27— 35— 54— 94—

100—103—103—120—103—111
17— 11— 26— 20—128

Oben: $p_H = 8{,}9$; unten: $p_H = 4{,}7$.

100—111—116—116— 93— . . . 93—93—
0— 14— 51— 14— . . . 16—16—

100—117—121—107—100— . . . 35—35—
2— 26— 38— . . . . . 53—76—

Ergebnis.

Es hat sich also zeigen lassen, daß die Reaktion der Lösung bei der Vergiftung des Muskels durch Phenol und Thymol eine Rolle spielt, indem der Zusatz von Alkali die Wirkung dieser Stoffe abschwächt; dies wird auf die Bildung von Phenolat oder Thymolat zurückgeführt, wodurch die Wasserlöslichkeit der Gifte erhöht wird und dadurch ihre Lösung in anderen organischen Phasen vermindert wird, oder auch nur ihre Anlagerung an organische Bestandteile. Es gilt also für diese beiden Stoffe das gleiche wie für die Barbitursäuren, wie in früheren Versuchen gezeigt wurde, und wie hier für die Muskelwirkung noch einmal dargestellt wurde. Dabei ist es auffällig, daß schon die Schwankungen der Reaktion, wie sie von den lebenden Gebilden ertragen werden, sich im Muskelversuch geltend machen, während man Änderungen der Löslichkeit der Stoffe durch Alkalizusatz zum Wasser erst bei starker Alkaleszenz beobachtet. Es kommt offenbar nicht auf die Löslichkeit in Wasser an, sondern auf die Verteilung zwischen Wasser und organischem Substrat.

Nicht in allen Fällen war der Einfluß der Reaktion der Badflüssigkeit bemerkbar. Besonders fehlte er, wenn man die Froschmuskeln alle fünf Minuten durch einen Einzelreiz zur Kontraktion brachte. Dagegen war der Einfluß der Reaktion beim Phenol bei Ermüdungsreihen deutlich: alkalische Reaktion setzte die Giftigkeit herab. — Auch bei Thymol wurde die Giftigkeit durch Alkalibeigabe vermindert, was besonders deutlich bei der Ausbildung der Kontraktur, die allmählich einsetzte, in die Augen fiel. — Es scheint also dann der Unterschied in der Giftigkeit besonders

auffällig, wenn man die Muskeln ermüdet; vielleicht liegt der Angriffspunkt der beiden Gifte in den Erholungsprozessen, worauf ja beim Thymol die Ausbildung einer Kontraktur schließen läßt. Diese fehlt aber beim Phenol, sie ist also nicht etwa die Folge der Reaktion an sich, sondern eine Thymolwirkung. Gerade so wie die Lähmung der Muskeln an sich keine Folge der Reaktion ist, sie tritt ja bei den gleichen Reaktionen sehr verschieden auf, und zwar je nach der Konzentration an Phenol oder Thymol. Daß der Unterschied besonders bei den Ermüdungsreihen sich zeigte, liegt wohl auch daran, daß hierbei immer die beiden Sartorien eines Frosches miteinander verglichen wurden, die in demselben Stromkreis liegend, ihre Zuckungen übereinander aufzeichneten; durch diese Versuchsanordnung wurde der individuelle Unterschied z. B. der Dicke der Muskeln soweit als möglich ausgeschaltet.

Es läßt sich also feststellen, daß beim Vergleich der beiden Sartorien eines Frosches, die derselben Giftkonzentration ausgesetzt wurden, die aber in verschiedener Reaktion diese Vergiftung durchmachten, bei ermüdender Tätigkeit ein Unterschied in der Schnelligkeit der Giftwirkung, der Tiefe der Vergiftung und beim Thymol auch hinsichtlich der Ausbildung einer Kontraktur sich zeigte: immer war die Giftigkeit von Phenol und Thymol in der alkalischen Lösung geringer.

Schluß.

Bei Einzelreizen hat sich ein Unterschied der Säurestufen der Badflüssigkeit weder bei Phenol noch bei Thymol gezeigt.

Dagegen wirken alkalische Lösungen der Giftwirkung von Phenol und Thymol bei Ermüdungsreihen entgegen, hinsichtlich der Zeit bis zum Eintritt der vollständigen Lähmung, hinsichtlich der Abnahme der Zuckungshöhe und beim Thymol auch hinsichtlich der Ausbildung einer Kontraktur.

Dieses Abschwächen der Phenol- und Thymolwirkung durch Alkali wird darauf zurückgeführt, daß das alkalische Wasser ein besseres Lösungsmittel für die Gifte darstellt, wodurch sie weniger vollständig in andere Lösungsmittel der Gewebe eindringen oder von organischen Substraten festgehalten werden. Dabei wird die Löslichkeit in Wasser in grob sichtbarer Weise erst bei starkem Alkali geändert; es wird aber angenommen, daß nicht die Löslichkeit an sich, sondern die Verteilung der Stoffe auch schon bei geringer Zunahme der Wasserlöslichkeit geändert wird, wodurch sie bei besserer Wasserlöslichkeit dem Gewebe fernbleiben.

Literatur.

1) Overton: Studien über die Narkose. Jena 1901. — 2) Gros, Naunyn-Schmiedebergs Arch. **63**, 80 (1910) u. **67**, 126 (1912) u. Münch. med. Wschr. **1910**, Nr. 39. — 3) E. Frey: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **159**, 163 (1931). — 4) Rhode u. Saito: Z. exper. Med. **38**, 503 (1923). — 5) Binz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **10**, 147 (1879). — 6) Salzer u. Fischer: Ebenda **182**, 170 (1936).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Der Einfluß der Calciumionen auf die Erregbarkeit des Vagus und Sympathicus.

Von

W. Schroeder.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Juni 1940.)

Nachdem Straub[1] in der Analyse der Wirkung des Muscarins und des Adrenalins eine Stoffgruppe gefunden hatte, deren Wirkungseffekt nur von der Konzentrationsdifferenz dieser Stoffe vor und in der Erfolgszelle abhängig war (Potentialstoffe), wurden zuerst durch Gremels[2] am zu den Potentialstoffen gehörigen Vagusüberträgerstoff Azetylcholin die Wirkungsbedingungen dieser Art von Substanzen genauer analysiert.

So konnte einmal die zentrale und periphere Vaguserregbarkeit[3] unter dem Gesichtspunkt der Potentialtheorie verstanden werden, wie andererseits besonders durch Zinnitz[4] und Heim[5] an der Azetylcholinwirkung der Einfluß der Änderung von Wirkungsbedingungen studiert wurde. Es konnte gezeigt werden, daß der Wirkungseffekt eines Potentialstoffes neben anderen Faktoren in hohem Maße von der Permeabilität der Zellgrenzfläche abhängig war, und zwar hatte eine mäßige Herabsetzung der Permeabilität eine Wirkungssteigerung und eine stärkere Hemmung der Durchlässigkeit eine Abschwächung bzw. Aufhebung der Wirkung zur Folge.

Die Deutung ist nach Gremels[6] folgende: Im ersten Falle staut sich der Potentialstoff vor der Membran infolge der erschwerten Passage solange, bis ein erhöhter Druck (Konzentrationsgefälle, Potential) einen Durchtritt von Molekülen unter verstärktem Wirkungseffekt erzwingt. Ist die Membran im zweiten Falle zu stark verdichtet, ist eine Passage kaum oder nicht mehr möglich und eine Wirkung kann nur schwach oder nicht mehr eintreten. Alle Stoffe, die die Zellgrenzflächendurchlässigkeit verändern können, wurden von Gremels[7] „Zustandsstoffe" genannt. Unter den Stoffen, die membranabdichtend wirken, zeigte derselbe Autor für das Azetylcholin die Wirkungsverstärkung durch Digitalisglykoside, Atropin u. a., und Heim[8] durch Narkotica. Diese Stoffe werden aber dem Organismus nur künstlich, d. h. therapeutisch bei Krankheiten zugeführt. Wir stellten uns daher die Frage, ob nicht im Organismus physiologisch

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **57**, 423 (1907) und Sitzungsber. phys.-med. Ges., Würzburg 1907. — [2–7] Literatur s. Gremels: Über Potentialstoffe. Erg. Physiol. usw. **42**, 53 (1939). — [8] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 212 (1938); **192**, 1 (1939).

ein Stoff vorkommt, der eine ausgesprochene membranabdichtende Wirkung hat und der auf diesem Wege die Wirkungsstärke der Potentialstoffe Azetylcholin und Adrenalin zu verändern imstande ist. Da die abdichtende Wirkung des Calciums bekannt ist, wurde sein Einfluß auf die Wirkungsstärke der genannten Überträgerstoffe oder, anders ausgedrückt, auf die Erregbarkeit des Vagus und Sympathicus in vorliegender Arbeit untersucht.

Untersuchungen über den Einfluß von Calciumchlorid- und Natriumoxalatinjektionen auf den Vagus wurden bereits von Löwi[9] ausgeführt, doch ließen diese Versuche kaum eine klare Gesetzmäßigkeit erkennen. Etwas durchsichtiger liegen die Verhältnisse bei den Untersuchungen über die Beeinflussung der Adrenalinwirkung: eine Calciumvermehrung fördert am Froschherz die systolische Wirkung und am Darm und Uterus die Hemmungswirkung des Adrenalins[10].

Die eigenen Untersuchungen erstreckten sich auf das Froschherz und für das intravenös zugeführte Azetylcholin und Adrenalin auf den Blutdruck der Katze. Dazu wurde weiter die Beeinflussung des elektrischen Vagusreizeffektes am Blutdruck und der Vorhofsfrequenz untersucht. Außerdem wurde noch ein Versuch über die Stoffwechselwirkung des Azetylcholins (intravenös) unter einer Calciuminfusion beobachtet.

I. Versuche am Froschherz.

Methodik.

Die Versuche wurden durchgeführt an nach Straub isolierten Herzen männlicher Esculenten. Der Kanüleninhalt betrug 1,0 ccm Ringer-Lösung, zu der jeweils 0,1 ccm Azetylcholin bzw. Adrenalin zugesetzt wurde. Die Bewegungen der Herzspitze wurden auf einen Schreibhebel übertragen.

Versuche.

Die Abb. 1 zeigt den Einfluß verschiedener Calciumchloridkonzentrationen der Ringer-Lösung auf die Azetylcholinwirkung. Im I. Drittel der Abbildung handelt es sich um eine Normal-Ringerlösung mit einem Calciumchloridgehalt von 0,02%. Bei *A* wird dem Kanüleninhalt 0,02 γ Azetylcholin zugegeben. In gleicher Weise wurde im II. Drittel der Abbildung verfahren, nur betrug hier der Gehalt der Ringer-Lösung an Calciumchlorid 0,03% und im III. Teil 0,04%. Man sieht (Tabelle 1), wie durch die Erhöhung des Calciumchloridspiegels die Azetylcholinwirkung etwas verstärkt und bedeutend verlängert wird.

Auch die Stärke und Dauer der Adrenalinwirkung wird durch eine Erhöhung des Calciumchloridspiegels, wie die Abb. 2 zeigt, verändert.

---

[9] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **70**, 343 (1912). — [10] Lit. s. Trendelenburg, P.: Die Hormone, S. 236. Berlin, Julius Springer, 1929.

Tabelle 1.

$CaCl_2$:	0,02 %ig mm	0,03 %ig mm	0,04 %ig mm
Ausgangshubhöhe	26	26	20
Hubhöhe nach Zugabe von 0,02 γ Azetylcholin	16	14	13
Hubhöhe nach 10′	24	18,5	14

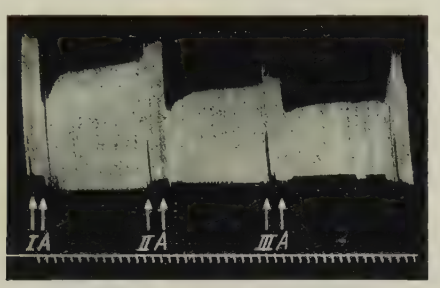


Abb. 1. Einfluß verschiedener Calciumkonzentrationen auf die Azetylcholinwirkung. I: Ringer-Lösung mit einem Calciumchloridgehalt von 0,02 %, II: 0,03 %, III: 0,04 %. *A*: Zugabe von 0,02 γ Azetylcholin.

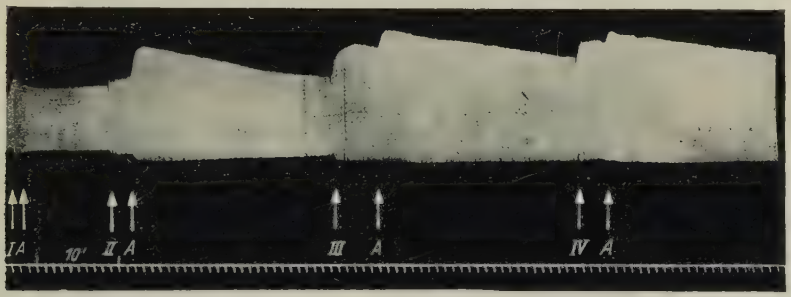


Abb. 2. Einfluß verschiedener Calciumkonzentrationen auf die Adrenalinwirkung. I: Ringer-Lösung mit einem Calciumchloridgehalt von 0,0025 %, II: 0,005 %, III: 0,01 %, IV: 0,02 %. *A*: Zugabe von 0,01 γ Adrenalin.

Am Froschherzen wurde hier das Maximum der Wirkung durch eine Normal-Ringerlösung, d. h. durch einen Calciumchloridgehalt von 0,02 % erreicht. Die Werte für die anderen Calciumkonzentrationen sind aus der Tabelle 2 zu entnehmen.

Tabelle 2.

$CaCl_2$:	0,0025 %ig mm	0,005 %ig mm	0,01 %ig mm	0,02 %ig mm
Ausgangshubhöhe	10	14,5	21,5	22,5
Hubhöhe nach Zugabe von 0,01 γ Adrenalin	15	22	25	25
Hubhöhe nach 20′	12,5 (nach 10′)	16	20,5	21

II. Versuche an der Katze.

Methodik.

a) Blutdruck.

Die Versuche wurden an 2,5–3,2 kg schweren Katzen ausgeführt, die mit 0,8–1,0 ccm pro kg Körpergewicht intramuskulär injizierter 10%iger Pernoctonlösung narkotisiert worden waren. Der Blutdruck wurde nach der Trendelenburgschen Methode der Gegenstrominfusion von einem Quecksilbermanometer registriert. Für die elektrische Vagusreizung wurden Wechselströme benutzt, die in einem Schwingungskreis mit einer Frequenz von 40 Hz erzeugt wurden. Die Reizintensität betrug 0,133 bis 1,2 mA. Gereizt wurde das periphere Ende des durchschnittenen linken Vagus. Die Versuche wurden $1^1/_2$ Stunden nach Durchschneidung beider Vagi begonnen.

b) Vorhofsfrequenz.

Nach Öffnung des Thorax in der Mittellinie und Freilegen des Herzens wurden die Bewegungen des rechten Herzohres mittels eines Seidenfadens auf eine Vorrichtung (nach Gremels[11]) übertragen, die bei jeder Vorhofskontraktion einen Stromkreis schloß. Die Zeit zwischen zwei Stromschließungen wurde durch einen Ordinatenschreiber nach Fleisch[12] aufgezeichnet.

c) Stoffwechsel.

Der Sauerstoff wurde nach dem Kroghschen Prinzip bei künstlicher Beatmung mit der Starlingschen Respirationspumpe bestimmt. (Genaue Beschreibung der Methode bei Gremels[13]).

Die Injektionen des Azetylcholins und Adrenalins erfolgten von der Vena jugularis externa aus, die Dauerinfusion von Calciumchlorid mittels einer motorgetriebenen Rekordspritze durch einen Seitenast der Vena emoralis. Alle Tiere wurden künstlich beatmet.

Versuche.

Bei den Versuchen wurde in regelmäßigen Abständen die gleiche Menge Azetylcholin bzw. Adrenalin mit derselben Geschwindigkeit intravenös injiziert. Hierbei zeigte sich, daß unter der steten Dauerinfusion von Calciumchlorid die Blutdruckzacken der ersten Testinjektionen sowohl in ihrer Größe als auch in ihrer Dauer verändert wurden. Die Abb. 3 und Tabelle 3 lassen erkennen, daß schon ziemlich bald nach Beginn der Dauerinfusion die Größe der Azetylcholinzacke zunahm und nach der Infusion von 5 mg Calciumchlorid bei einer Infusionsgeschwindigkeit von 0,140 mg in der Minute ihr Maximum erreichte, wobei eine der Tiefe

[11] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 260 (1935). — [12] Z. exper. Med. **72**, 384 (1930). — [13] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 689 (1933).

der Blutdrucksenkung entsprechende Verbreiterung der Zacke eingetreten war. Die Adrenalinwirkung hatte sich bis jetzt nicht wesentlich geändert.

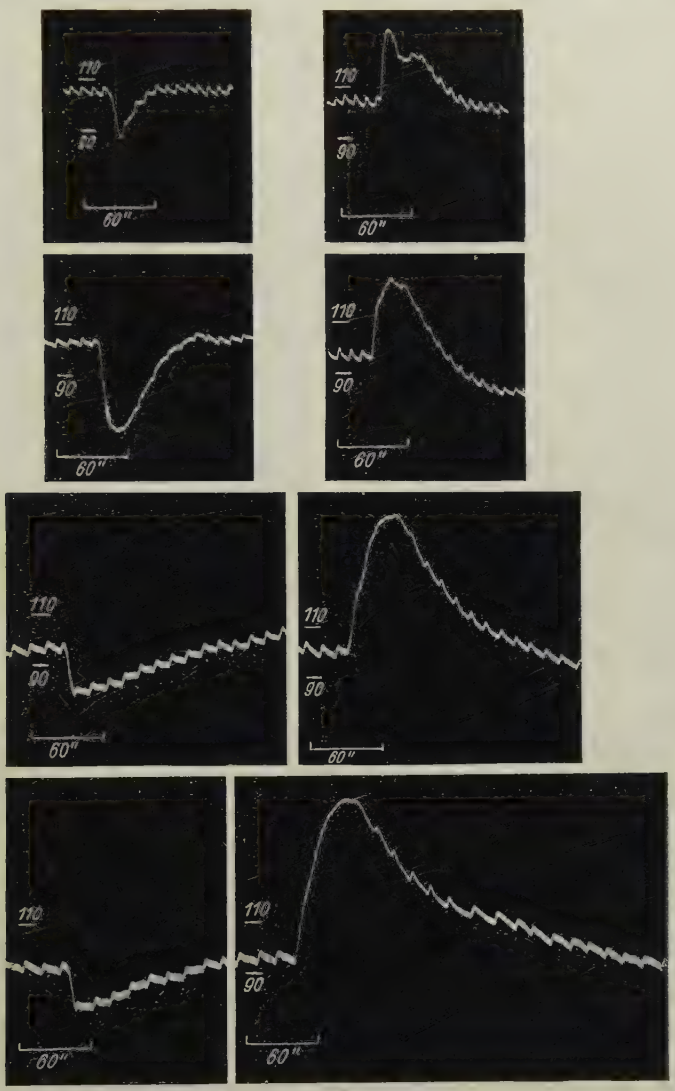


Abb. 3. Versuch vom 6. Februar 1940. Katze, 3,2 kg, 0,8/kg Pernocton. Die Änderung der Azetylcholin- (links) und Adrenalin- (rechts) Wirkung unter einer Calciumchloriddauerinfusion. Die nebeneinander stehenden Bilder sind immer kurz hintereinander gemacht worden. Infusionslösung: 400 mg % $CaCl_2$. Infusionsgeschwindigkeit: 0,140 mg/Min. Azetylcholinmenge pro Injektion: 0,1 γ. Adrenalinmenge pro Injektion: 10 γ.

Im weiteren Verlauf verkleinerte sich die Azetylcholinzacke zugunsten einer sehr starken Verbreiterung und gleichzeitig nahm die Adrenalinzacke in ihrer Höhe und Breite beträchtlich zu. Am Ende des Versuchs lag die

Tabelle 3.

Zeit in Min.	Azetylcholin		Adrenalin		Infund. $CaCl_2$ in mg	Bild-Nr. der Abb. 3
	Blutdrucksenkung in mm	Dauer der Blutdrucksenkung in mm 1 mm = 4″	Blutdruckerhöhung in mm	Dauer der Blutdruckerhöhung in mm 1 mm = 4″		
0	10,7	10,0	15,5	17,5	0	I
18	12,2	16,5	13,0	14,0	3	
29	19,0	18,0	16,8	14,5	5	II
45	12,0	26,0	20,0	20,0	7	
57	10,1	22,0	24,5	21,6	10	III
72	10,0	22,0	27,5	32,0	13	
87	10,2	28,0	27,0	36,0	15	
102	10,5	30,0	28,0	37,0	18	
117	10,0	35,0	28,5	41,0	20	
133	9,5	32,0	29,0	41,5	23	
158	9,5	22,0	32,0	60,0	26	IV

Größe der Azetylcholinzacke etwas unter der Testzacke, doch war die Dauer, die wieder etwas abgenommen hatte, noch deutlich verlängert. Im Maximum betrug die Zunahme der Größe des Azetylcholineffektes in diesem Versuch 77,6% und die des Adrenalins 106%, bei Multiplikation der Größe mit der Zeitdauer sogar 220 bzw. 590%, Werte, die in dieser Versuchsanordnung fast immer erreicht wurden. Es zeigte sich also ein Zunehmen und Wiederabschwellen der Vaguserregbarkeit, während die Sympathicuserregbarkeit eine Zunahme erfuhr, nachdem die Vaguserregbarkeit ihr Maximum überschritten hatte.

Vergleicht man in einem Versuch den Einfluß einer Calciumchloridinfusion auf die Blutdrucksenkung, die abwechselnd durch Injektion von Azetylcholin und elektrischer Vagusreizung hervorgerufen wurde, erkennt man im Prinzip die gleichen Veränderungen mit der Ausnahme, daß die Verbreiterung der Blutdruckzacken unter der Vagusreizung nicht stattfand. Das Maximum der Wirkung trat für die elektrische Vagusreizung etwas später ein als für das injizierte Azetylcholin, während die Abnahme bis zum vollständigen Verschwinden der Wirkung, die für das injizierte Azetylcholin in keinem Versuch zu erreichen war, schon bei mäßigen Calciumchloridmengen erfolgte. Im Versuch der Abb. 4 war eine Wirkung des Vagusreizes schon nicht mehr zu erkennen, als die Größe der Blutdrucksenkung durch Injektion von Azetylcholin erst um 24% abgenommen hatte.

Während die Calciumzufuhr bei den bisherigen Versuchen mittels einer gleichmäßigen Dauerinfusion von 0,281—0,735 mg pro Minute erfolgte, wurde in weiteren Versuchen das $CaCl_2$ in Einzelinjektionen von je 1 ccm einer 0,5—5%igen Lösung gegeben. Hierbei zeigte sich, daß in dieser Versuchsanordnung sehr viel größere Calciumchloridmengen nötig waren, um denselben Effekt zu erreichen, als bei einer Dauerinfusion. So

konnte in einem Versuch, dessen Ergebnis in Tabelle 4 dargestellt ist, erst nach Injektion von insgesamt 110 mg eine maximale Wirkungssteigerung erzielt werden.

Die gleiche Mengenbeziehung zwischen der Dauerinfusion und den Einzelinjektionen von $CaCl_2$ zeigte sich auch in der Beeinflussung der Wirkung eines elektrischen Vagusreizes auf die Vorhofsfrequenz der Katze.

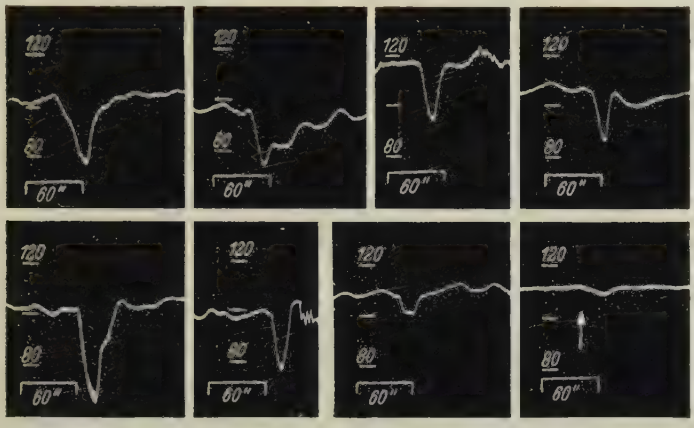


Abb. 4. Versuch vom 12. März 1940. Katze, 3,4 kg, Pernocton 1,0/kg. Vergleich der Wirkungsänderung elektrischer Vagusreizung (untere Reihe) und Azetylcholininjektionen (obere Reihe) auf den Blutdruck während einer Calciumchloriddauerinfusion. Die untereinander stehenden Bilder sind kurz hintereinander gemacht worden. Azetylcholin pro Injektion: 0,12 γ. Reizung des linken peripheren Vagusstumpfes während 15 Sek. mit einer Reizstärke von 0,133 mA. Infusionslösung 1% $CaCl_2$, Infusionsgeschwindigkeit 0,281 mg/Min. Infundierte $CaCl_2$-Mengen bei I = 0 mg, II = 22 mg, III = 35 mg, IV = 45 mg.

Tabelle 4.

Versuch vom 19. III. 1940. Katze, 2,0 kg, Pernocton 1,0/kg. Die Wirkungsänderung der elektrischen Vagusreizung durch Einzelinjektionen von $CaCl_2$. Reizung des linken peripheren Vagusstumpfes mit einer Reizstärke von 1,2 mA durch 15 Sekunden. Die Reizung erfolgte 5 Minuten nach der $CaCl_2$-Injektion.

Zeit in Min.	Blutdrucksenkung in mm	Injiziertes $CaCl_2$ in mg	Zeit in Min.	Blutdrucksenkung in mm	Injiziertes $CaCl_2$ in mg
0	10,0	0	70	13,8	80
20	10,3	10	80	13,9	110
30	10,8	20	90	12,9	160
40	10,2	30	100	9,1	210
50	12,0	40	110	8,0	310
60	13,2	60	120	6,0	360

Während bei der Dauerinfusion ein Vaguseffekt schon nach 1 mg $CaCl_2$ (Infusionsgeschwindigkeit 0,012 mg/Min.) nicht mehr sichtbar war, wurden hierfür im anderen Falle 8 Einzelinjektionen von je 10 mg, also insgesamt 80 mg $CaCl_2$ benötigt. Im übrigen zeigte sich auch hier wieder die anfängliche Verstärkung der Vaguswirkung.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

In allen Versuchen, am Froschherz, am Blutdruck und an der Vorhofsfrequenz, konnte gezeigt werden, daß die Vaguserregbarkeit, die entweder direkt durch elektrische Reizung des Vagus oder indirekt durch Injektion des Überträgerstoffes des parasympathischen Nervensystems, des Azetylcholins, geprüft wurde, durch Zufuhr von $CaCl_2$ zunächst eine Verstärkung, dann eine Abschwächung und bei der elektrischen Reizung sogar eine Aufhebung erfuhr. Die Erregbarkeit des sympathischen Nervensystems, die nur am Froschherz und Blutdruck der Katze geprüft wurde, nahm unter der $CaCl_2$-Zufuhr stetig zu. Sie trat am Blutdruck erst in Erscheinung, nachdem die Vaguserregbarkeit ihr Maximum überschritten hatte und wieder im Abnehmen begriffen war. Bei der genaueren Analyse der Blutdrucksenkungen durch Injektion von Azetylcholin zeigte sich, daß die Dauer derselben mit der Calciuminfusion ständig zunahm und erst wieder abnahm, nachdem auch die Größe der Blutdrucksenkung unter den Ausgangs- (Bezugs-) Wert gesunken war. Eine Verbreiterung derjenigen Zacken, die durch elektrische Vagusreizungen hervorgerufen waren, trat nicht ein. Für die Veränderung der Vaguserregbarkeit waren sehr viel kleinere $CaCl_2$-Mengen bei einer Dauerinfusion als bei Einzelinjektionen nötig.

Diese Erscheinungen lassen sich zwanglos durch die Potentialtheorie erklären. Da es durch das zugeführte $CaCl_2$ zu einer Abdichtung der Zellgrenzflächen, d. h. zu einer Erschwerung der Membranpassage kommt, ist bei mäßigem Grade der Abdichtung — der bei den Versuchen am Froschherz nur vorliegt — eine Bedingung für die Intensitätssteigerung der Wirkung gegeben. Bei weiterer Zufuhr von $CaCl_2$ nimmt nun die Membranabdichtung einen derartigen Grad an, daß eine Passage der Azetylcholinmoleküle nur mehr beschränkt möglich ist, und somit die Vaguserregbarkeit für die angewandte Azetylcholinmenge abnimmt bzw. für die elektrische Reizintensität schließlich erlischt. Wenn man nun die Reizintensität vergrößert, muß die Azetylcholinkonzentration vor der Zellgrenzfläche zunehmen, bis die Spannung (das Potential) des aufgestauten Azetylcholins einmal so groß geworden ist, daß es durch die Zellmembran durchbricht und wieder einen Effekt auslöst. Daß dies wirklich so ist, konnte in einem Versuch an der Beeinflussung der Vorhofsfrequenz durch elektrische Vorhofsreize gezeigt werden, wo eine Reizstärke von 0,16 mA, die eine Abnahme der Vorhofsfrequenz um 65 % (von 193 auf 65—70/Min.) machte, nach Injektion von 9×10 mg $CaCl_2$ ohne Wirkung blieb. Nach Steigerung der Reizintensität auf 0,29 mA wurde wieder der frühere Vagusreizeffekt erzielt. Nach weiterer Injektion von 2×10 mg $CaCl_2$ mußte die Reizintensität auf 0,33 mA, nach weiteren 2×10 mg auf 0,37 mA und schließlich nach 3×10 mg auf 0,39 mA steigen, um die frühere Wirkung zu erhalten.

Das vollständige Erlöschen der Vaguserregbarkeit bei elektrischer Reizung findet eine Erklärung in der Tatsache, daß die Menge des ge-

bildeten Azetylcholins bei einer Vagusreizung im Vergleich zu den injizierten Azetylcholinmengen sehr gering ist. Daher muß schon bei mäßiger Hemmung der Membranpassage die Wirkungsintensität stärker abnehmen bzw. erlöschen. Man kann sagen, daß hier das Calcium eine atropinähnliche Wirkung hat. Das Atropin hat ja auch, wie Gremels[14] gezeigt hat, in kleinen Dosen eine Erhöhung der Vaguserregbarkeit bewirkt, ehe es zu einer vollkommenen „Vaguslähmung" kommt.

Die Adrenalinwirkung zeigt nur das Anschwellen unter der Calciumchloridzufuhr. Sie setzte erst ein, wie schon gesagt, nachdem die Vaguserregbarkeit ihr Maximum überschritten hatte. Eine Abnahme derselben konnte auch bei höheren Calciummengen nicht mehr beobachtet werden, da der Blutdruck dann unter der großen Calciumzufuhr sehr unstabil wird und große Schwankungen zeigt. Somit erfolgt für das Adrenalin nur eine Wirkungsverstärkung unter der stetig fortschreitenden Abdichtung der Zellgrenzflächen. Wir möchten nun das spätere Einsetzen dieses Effektes folgendermaßen erklären. Wie man erkennen kann, liegt das Maximum der Erregbarkeit des vagischen Nervensystems bei relativ geringeren Calciumkonzentrationen — nach Zufuhr von 1–2–3 mg $CaCl_2$ kann sie schon stark abgenommen haben – als das Maximum der Erregbarkeit des sympathischen Nervensystems. Es ist also möglich, allein durch geringe Änderung des Calciumspiegels die Tonuslage von der parasympathischen zur sympathischen Seite zu verschieben. Wenn dieser Mechanismus besteht, darf aber ein bestimmter Grad der Membranabdichtung nicht die Wirkung des Azetylcholins und Adrenalins in gleicher Stärke beeinflussen, sondern es muß, wie es ja auch tatsächlich gezeigt werden konnte, die Beeinflussung der Wirkung der Überträgerstoffe nacheinander erfolgen. Das Durchtrittsvermögen der Moleküle hängt ja von bestimmten Eigenschaften (Molekülgröße, elektrische Ladung u. a.) derselben ab, die diese Unterschiede wie beim Adrenalin und Azetylcholin bedingen.

Die Verstärkung und Abschwächung der Azetylcholinwirkung ließ sich zwanglos durch die Veränderung der Membranpermeabilität erklären. Die starke Verlängerung der Blutdruckzacke bei intravenöser Azetylcholinzufuhr kann aber nur dann auf eine verzögerte Membranpassage zurückgeführt werden, wenn gleichzeitig die hohe Geschwindigkeit des Azetylcholinabbaus im Blute gebremst wird. Daß tatsächlich dabei eine Hemmung der Azetylcholinesterasewirkung durch Calciumchlorid, wie sie von Neuschlosc[15] für ein anderes Ferment, die Rohrzuckerinvertase, gezeigt wurde, eine Rolle spielt, konnte durch die Versuchsanordnung nach Heim[16] gezeigt werden. Es wurde 0,1 ccm arteriell entnommenes Blut mit 0,9 ccm physiologischer NaCl-Lösung gemischt und 0,5 ccm dieser Blutverdünnung 0,25 γ Azetylcholin (= 0,25 ccm) und 0,5 ccm

[14] Erg. Physiol. usw. **42**, 92 (1939). — [15] Arch. ges. Physiol. **181**, 45 (1920). — [16] Naunyn-Schmiedebergs Arch., im Druck.

physiologischer NaCl zugesetzt. Hiervon wurden in der 1., 3., 6., 9. Minute nach der Mischung (I. Teil der Abb. 5) je 0,2 ccm + 0,3 ccm physiologische NaCl intravenös einer Katze unter Registrierung des Blutdrucks injiziert. Man sieht, daß die einzelnen Blutdrucksenkungen eine stete Abnahme infolge der Veresterung des Azetylcholins erfahren, und daß in der 9. Minute nur eine gerade noch erkennbare Wirkung erfolgt. Setzt man nun der

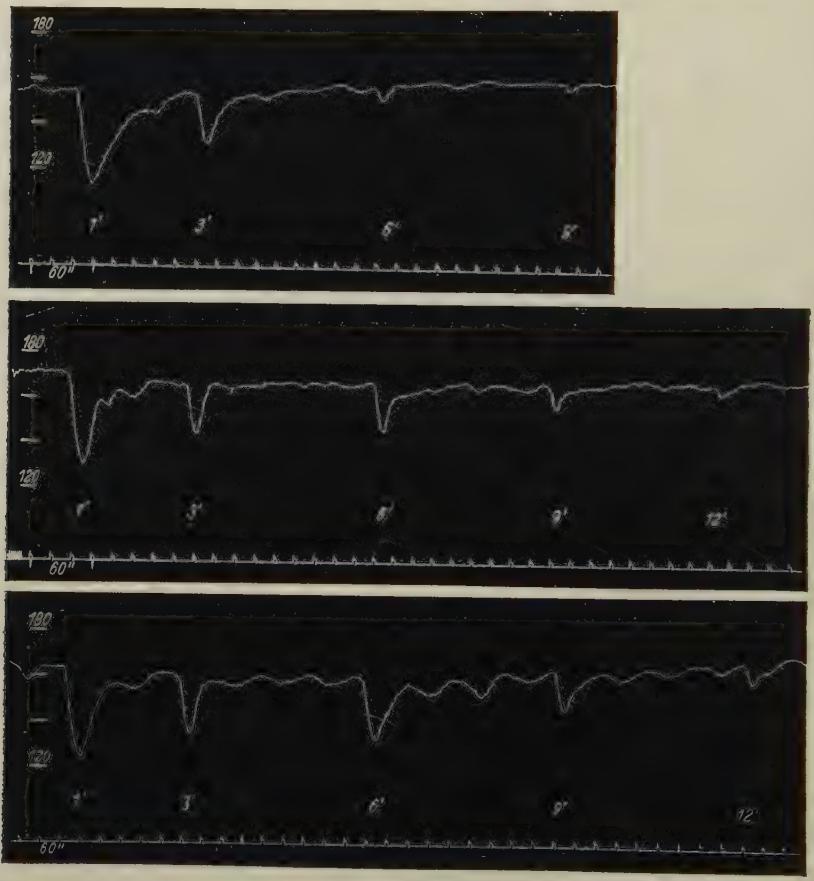


Abb. 5. Versuch vom 7. März 1940. Katze, 2,0 kg, Pernocton 1,0/kg. Einfluß des $CaCl_2$ auf die Hemmung der Azetylcholinesterase. (Erläuterung im Text.)

Mischung anstatt der 0,5 ccm physiologischer NaCl 0,5 ccm einer 0,2%igen $CaCl_2$-Lösung zu, sieht man (II. Teil der Abb. 5), daß die einzelne entsprechende Blutdrucksenkung größer und noch deutlich sogar in der 12. Minute erkennbar ist. Bei Zusatz von 0,5 ccm einer 1%igen $CaCl_2$-Lösung ist eine weitere sinngemäße Steigerung eingetreten. Damit dürfte die Hemmung der Azetylcholinesterase, wie sie Heim[16] in dieser Versuchsanordnung für die Narkotica gezeigt hat, auch für das Calciumchlorid

bewiesen sein. Daß die Breite der Blutdruckzacke des intravenös zugeführten Azetylcholins bei höherem Calciumspiegel wieder abnimmt, dürfte seine Ursache in der hochgradigen Hemmung der Membranpassage auch für eine größere, nicht abgebaute Azetylcholinmenge haben. Eine Verlängerung der Blutdrucksenkung bei elektrischer Vagusreizung tritt niemals ein. Diese Tatsache ist schwieriger zu erklären und vermutungsweise nur so zu deuten, daß in den äußersten Zellgrenzflächenschichten, in denen die Endaufsplitterung des Vagus erfolgt, sich keine oder doch nur eine sehr geringe Konzentration der Cholinesterase, deren Hemmung durch Calciumchlorid damit nicht erfolgen kann, befindet. Diese Annahme wäre eine logische Folgerung aus den optimalen Wirkungsbedingungen der Potentialstoffe. Diese fordern (Gremels[6]) eine möglichst geringe Konzentration des Potentialstoffes im Zellinnern, die wieder nur durch eine große Abbaupakazität derselben möglich ist. Für das Azetylcholin angewandt, muß also die Esterasekonzentration im Zellinnern sehr groß sein und mit der Entfernung vom Zellinnern abnehmen, d. h. in den äußeren Zellgrenzflächenschichten sehr klein oder sogar Null sein. Denn ein Abbau der Überträgerstoffe der Nervenwirkung schon in den äußersten Zellgrenzflächenschichten würde die Höhe der Konzentrationsdifferenz in unerwünschter Weise beeinflussen. Daß sich im Blutserum eine verhältnismäßig hohe Esterasekonzentration befindet, steht mit den dargelegten Vermutungen nicht im Widerspruch, denn das durch einen Vagusreiz entstandene Azetylcholinpotential wird sich nicht nur in der Richtung zum Zellinnern, sondern auch in Richtung zur Interzellular- und Gewebsflüssigkeit auszugleichen versuchen. Damit nun nicht die Vaguswirkung auf entferntere Zellen infolge der Bewegung der Interzellularflüssigkeit übertragen wird, muß durch die hohe Esterasekonzentration der Blut- und Gewebsflüssigkeit für einen schnellen Abbau gesorgt werden.

Ob auch die Abbaugeschwindigkeit des Adrenalins durch das Calcium gehemmt wird, konnte nicht gezeigt werden. Doch läßt sich bei der sehr viel langsameren Abbaugeschwindigkeit dieses Stoffes seine verlängerte Wirkung allein schon durch die Verzögerung der Membranpassage erklären.

Maßgebend für die Wirkungsänderung der Überträgerstoffe der Nervenwirkung war am Froschherzen die Höhe des Calciumspiegels. Daß jeder Calciumkonzentration ein bestimmter Grad der Membranabdichtung zugehörig ist, soll auch noch weiter unten in einem Modellversuch an der Hämolysegeschwindigkeit der roten Blutkörperchen gezeigt werden. Nun schien aber ein gewisser Widerspruch in dem Verhältnis der Dosengrößen bei Einzelinjektionen und Dauerinfusionen von Calcium zu liegen. Denn auch nach mehreren größeren Calciuminjektionen erhält man, wenn 5 Minuten nach der Injektion getestet wird, keinerlei Wirkungsänderung. Daraus ist, wie dies auch durch Bestimmung des Blutcalciumgehaltes gezeigt werden konnte, zu schließen, daß das zugeführte Calciumchlorid

sehr schnell vom Körper aufgefangen und irgendwie gebunden wird. Erst nach Injektion sehr viel größerer Calciummengen zeigt sich eine Wirkungsänderung. Man muß jetzt annehmen, daß dieser Abfangmechanismus eine gewisse Absättigung erfahren hat, und nun der Blut- und Gewebscalciumspiegel etwas gesteigert werden kann, wie dies künstlich durch die Dauerinfusion mit ganz geringen Mengen erzielt wird. In diesem Stadium der teilweisen Absättigung durchläuft die Erregbarkeitsänderung durch eine einzelne $CaCl_2$-Injektion für einen elektrischen Vagusreiz, wie in einem Versuche an der Beeinflussung der Vorhofsfrequenz (Abb. 6) gezeigt werden konnte, 3 Stadien. Im 1. Stadium, sofort nach der Injektion von 10 mg $CaCl_2$, ist die Vaguserregbarkeit verstärkt. Während vorher bei einer Reizung mit einer Intensität von 0,37 mA die Vorhofsfrequenz um 59 % (von 193 auf 78/Min.) abnahm, wurde jetzt bei derselben Reizstärke eine Abnahme von 73,5 % (auf 51/Min.) erzielt. 2 Minuten später war die Erregbarkeit stark gesunken (2. Stadium), und die Vorhofsfrequenz nahm nur noch um 43 % (auf 113/Min.) ab. Nach weiteren 2 Minuten war der Reizerfolg noch geringer (35 %; auf 125/Min.), um dann wieder zuzunehmen und sich endgültig auf einen Wert einzustellen, bei dem die Vorhofsfrequenz um 68 % (auf 100/Min.) abnahm (3. Stadium). Hiermit hatte sich also die Vaguserregbarkeit auf ein neues Niveau eingespielt, das 15 % unter dem Ausgangswert lag.

Die Aufeinanderfolge dieser 3 Stadien zeigt in anschaulicher Weise in der Beeinflussung der Zellmembran (d. h. der Vaguserregbarkeit) den schnellen Abtransport des Calciums. Im ersten Stadium, sofort nach der Injektion, war nur erst eine geringe $CaCl_2$-Konzentration an die Grenzflächen der Gefäßmuskelzellen gelangt und verursachte hier eine Wirkungssteigerung infolge mäßiger Membranabdichtung. Im zweiten Stadium (2.—4. Minute) trat durch die Gefäßwand eine hohe $CaCl_2$-Konzentration unter gleichzeitiger starker Herabsetzung des Wirkungseffektes infolge hochgradiger Membranabdichtung. Im dritten Stadium (nach 6 Minuten) war es zu einem Ausgleich des zugeführten Calciums über den ganzen Organismus gekommen, wobei eine leichte Erhöhung des Blut- und Gewebsspiegels resultierte, die nun das neue Niveau der Vaguserregbarkeit bestimmte.

Die von Gremels[17] festgestellte assimilatorische Funktion des Vagus bzw. seines Überträgerstoffes Azetylcholin erfährt ebenfalls durch eine Calciumdauerinfusion eine weitgehende Verstärkung. Bei einer 2,2 kg schweren Katze (Versuch vom 19. IV. 1940), Pernocton 1,0 /kg, trat unter einer Dauerinfusion von 0,004 γ Azetylcholin/Min. nach 95 Minuten eine Sauerstoffeinsparung von 16 % ein, die durch eine Dauerinfusion von 0,18 mg $CaCl_2$/Min. auf das Doppelte, nämlich 33,5 % und durch eine

[17] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 689 (1933); **182**, 1 (1936); **186**, 625 (1937).

weitere Erhöhung der Infusionsgeschwindigkeit auf 2,36 mg/Min. sogar auf eine Einsparung von 44,5 % gebracht wurde.

Zum Schluß soll noch über die Ergebnisse einer Untersuchungsmethode, deren genaue Beschreibung an einer anderen Stelle* erfolgt, berichtet werden, die es gestattet, die zeitliche Verzögerung der Membranpassage durch $CaCl_2$ zu messen. Es wurde hierbei die Zeit vor der Zugabe roter Blutkörperchen zu einem hämolytischen System bis zur vollständigen Hämolyse, welche an der verstärkten Lichtdurchlässigkeit der Blutlösung

Abb. 6. Versuch vom 9. April 1940. Katze, 2,2 kg, Pernocton 0,8/kg. Der Einfluß einer einzelnen $CaCl_2$-Injektion (10 mg) auf die Vaguserregbarkeit, die 0, 2, 4, 6 und 8 Min. nach der Injektion am peripheren Ende des linken Vagus mit einer Reizintensität von 0,37 mA (15 Sek. lang) geprüft wurde. *F*: Vorhofsfrequenz nach Vagusreizung.

exakt durch eine Photozelle registriert wurde, gemessen. Für die Versuche verwandten wir frisch entnommenes, unverdünntes Kaninchenblut, das durch Zusatz von Vetren (Promonta) ungerinnbar gemacht worden war. Die Hämolyse erfolgte in einer Küvette von 10,0 ccm Inhalt und einer Schichtdicke von 1,0 cm mit einer Blutmenge von 0,1 ccm. Nachdem zunächst die Hämolysegeschwindigkeit in destilliertem Wasser bestimmt worden war, wurde dieses nacheinander durch eine 0,5—20 mg%ige

* S. 706 dieses Heftes.

$CaCl_2$-Lösung ersetzt und so die prozentuale Verlängerung der Hämolysegeschwindigkeit ermittelt.

Die kurvenmäßige Darstellung der Änderung der Hämolysegeschwindigkeit, die auf die Erschwerung der Membranpassage zurückzuführen ist, zeigt das Bild einer Exponentialfunktion. Man erkennt, daß in einer Lösung von 5 mg% $CaCl_2$ sich die Hämolysezeiten auf das Doppelte, auf 100% verlängert haben. Von 5 – 10 mg% $CaCl_2$ zeigt sich eine sehr viel kleinere und von 10—20 mg% $CaCl_2$ nur noch eine ganz geringe Änderung der Hämolysegeschwindigkeit. Der größte Wirkungseffekt liegt also in dem geraden Teil der Kurve von 1—4 mg%. Da man annehmen muß, daß für die

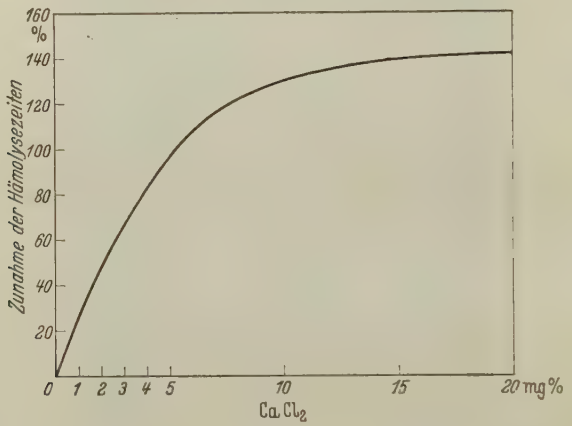


Abb. 7. Einfluß steigender $CaCl_2$-Konzentrationen auf die Hemmung der Hämolysegeschwindigkeit roter Blutkörperchen. Abszisse: $CaCl_2$-Konzentration in mg%. Ordinate: Verlängerung der Hämolysezeiten in Prozenten.

Calciumwirkung nicht das elektrisch neutrale $CaCl_2$-Molekül, sondern das Calciumion – die gleichen Wirkungen lassen sich durch andere lösliche Calciumverbindungen, z. B. durch das Calcium gluconicum erzielen — verantwortlich ist, paßt sich der Wert des ionisierten Calciums im Blutplasma von 2 mg% gut in diesen Kurventeil ein. Von den 11 mg% Calcium des Blutplasmas sind nämlich etwa $^1/_3$ (4—5 mg%) kolloidal gebunden, etwa die Hälfte elektrisch neutral und nur $^1/_6$ (2 mg%) ionisiert. „Sowohl das kolloidale als das kristalloide Blutcalcium sind nicht fest verankert, sondern können außerordentlich leicht in toto in ionisierte Form übergehen. Schon ganz geringfügige Verschiebungen des Ionenmilieus nach der acidotischen Seite rufen verstärkte Calciumionisation hervor, während leicht alkalotische Zustände die Calciumionisation zurückdrängen“[18]. Da nun eine Änderung der Calciumionenmenge von nur 1 mg% (= 1,77 mg $CaCl_2$) die Geschwindigkeit der Membranpassage schon um etwa 30% verändert,

[18] Sturm, A.: Im Lehrbuch der speziellen path. Physiol., S. 368. Jena, Verlag G. Fischer, 1935.

ergibt sich hieraus die Bedeutung derselben auf die Wirkung der Potentialstoffe, insbesondere der Überträgerstoffe der Nervenwirkung, das Azetylcholin und das Adrenalin.

Zusammenfassung.

Die Höhe des Calciumspiegels der Blut- und Gewebssäfte steuert die physiologische Permeabilität der Zellgrenzflächen und gewinnt hiermit einen Einfluß auf die Tonuslage des vegetativen Nervensystems, da die Wirkungsintensität der Überträgerstoffe desselben nach Gremels von der Zellgrenzflächendurchlässigkeit abhängig ist. Die Änderung der Tonuslage verläuft in zwei Phasen; in der ersten erfolgt eine Zunahme der Vaguserregbarkeit, und in der zweiten eine Abnahme derselben unter Zunahme der Sympathicuserregbarkeit.

Die Tätigkeit der Azetylcholinesterase wird durch einen höheren Calciumspiegel gehemmt.

Es ist versucht worden, den Zeitfaktor der Verzögerung der Membranpassage durch $CaCl_2$ an der Beeinflussung der Hämolysegeschwindigkeit roter Blutkörperchen zu bestimmen.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Methode zur Messung der Hämolysegeschwindigkeit roter Blutkörperchen.

Von

W. Schroeder.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Juni 1940.)

Das Prinzip der im folgenden angegebenen Methode zur Messung der Hämolysegeschwindigkeit roter Blutkörperchen beruht auf der Registrierung der Änderung der Lichtdurchlässigkeit einer Aufschwemmung sich auflösender Blutkörperchen mit Hilfe einer elektrischen Photozelle, deren Strom von der Beleuchtungsstärke linear abhängig ist. Die Abb. 1a

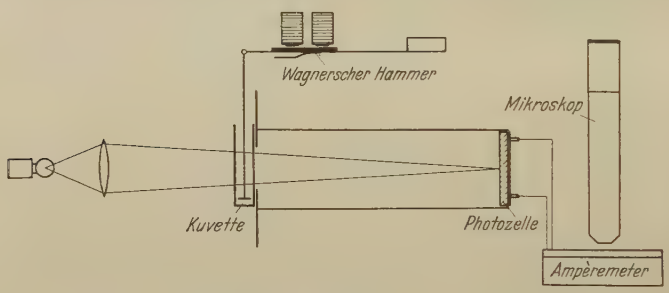


Abb. 1a. Schematischer Aufbau der Versuchsanordnung.

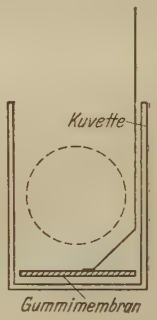


Abb. 1b. Seitenansicht der Küvette mit undulierender Gummiplatte.

zeigt schematisch den Aufbau der Versuchsanordnung. Das Licht einer mattierten 6 Volt-Lampe (1,8 Watt), die ein Akkumulator — um Stromschwankungen des Netzes zu vermeiden — speist, wird durch eine Sammellinse von 22,5 Dioptrien durch eine Küvette, deren Innenmaße $1{,}0 \times 4{,}5 \times 3{,}0$ cm betragen, auf ein Selen-Photoelement (System Dr. W. Lange) mit einem Durchmesser der lichtempfindlichen Schicht von 28 mm geworfen. Als Meßinstrument ist ein Zeigermikroampèremeter mit einer Empfindlichkeit von $0{,}2 \cdot 10^{-6}$ Amp. pro Skalenteil (Widerstand etwa 800 Ohm) benutzt worden. Für die Messung wird die Glasküvette mit 10 ccm destilliertem Wasser oder einem anderen hämolytischen System gefüllt und mit einer Rekordspritze (mit Nadel) 0,1 ccm Blut schnell mit der rechten Hand in die Flüssigkeit injiziert, während man mit der linken Hand gleichzeitig eine Stoppuhr anlaufen läßt. Das Stoppen der Uhr erfolgt in dem Augenblick, wo der Ausschlag des Ampèremeters gerade

sein Maximum erreicht hat (s. w. u.). Die Hauptschwierigkeit in der Entwicklung der Methodik lag in der Konstruktion einer Vorrichtung, die möglichst schnell und absolut gleichmäßig, dazu luftblasenfrei, für die Mischung des Blutes mit dem hämolytischen System sorgte. Diese Bedingungen wurden in idealer Weise von folgender Vorrichtung erfüllt. An den Wagnerschen Hammer einer Hausklingel (4 Volt) wurde etwa 1 cm hinter dem Hammer durch ein kleines Gelenk ein Draht angebracht, der fast bis auf den Boden der Küvette reichte und hier in einem Winkel von 45° abgebogen war (s. Abb. 1 b). Am Ende des Drahtes war eine Gummiplatte von 29 × 8 mm Größe und 1,5 mm Dicke so befestigt, daß der Ansatz des Gummis sich nicht in der Mitte, sondern etwas zum Draht hin verschoben befand. Bei arbeitendem Hammer treibt die Gummiplatte als undulierende Membran die Flüssigkeit kreisförmig durch die

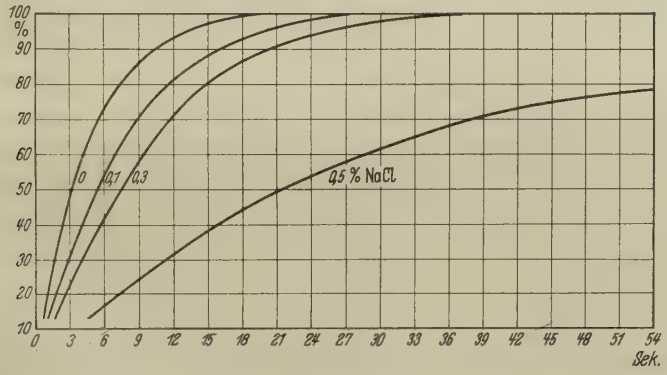


Abb. 2. Verlauf der Hämolyse (Änderung der Lichtdurchlässigkeit) einer Aufschwemmung roter Blutkörperchen in destilliertem Wasser, 0,1, 0,3 und 0,5 % NaCl. Abszisse: Zeit in Sekunden; Ordinate: Hämolysewert in Prozenten (Rinderblut, defibriniert, 2 mal gewaschen, 1 : 2 mit physiologischer NaCl verdünnt).

Küvette. Die Abb. 2 zeigt den zeitlichen Ablauf der Hämolyse roter Blutkörperchen in destilliertem Wasser und in verschiedenen NaCl-Konzentrationen. Die erste Kurve (dest. Wasser) steigt steil an und verläuft dann ziemlich flach. Die Zeigerbewegung am Ende der Hämolyse ist also nur sehr gering, und es ist deshalb notwendig, diese durch ein Mikroskop mit Meßokular abzulesen. Praktisch geht man folgendermaßen vor: Nachdem man in einem Vorversuch das Ende der Hämolyse abgewartet hat, stellt man die Nullmarke des Meßokulars auf den Zeiger des Meßinstruments. In dieser Einstellung erhält man die wahre Zeit für eine 100 %ige Hämolyse. Nun wird aber infolge des ruckweisen Kriechens des Zeigers kurz vor der Nullmarke eine Unsicherheit in die exakte Bestimmung der Hämolysezeit gebracht, da nicht immer der Zeiger bis zur Nullmarke ruckt, sondern oft kurz davor stehen bleibt. Es hat sich daher als praktisch erwiesen, nicht die 100 %ige, sondern eine 98 %ige Hämolyse abzulesen.

War z. B. die 100%ige Hämolyse bei einem Zeigerausschlag von 0,062 mA erfolgt, so wird man für eine 98%ige Hämolyse die Nullmarke auf den Zeigerausschlag von 0,060 mA einstellen und mit dieser Einstellung die ganze Versuchsreihe durchführen. Jetzt läßt sich die Hämolysezeit sehr exakt abstoppen, da das Anschneiden der Nullmarke durch den Zeiger mit einer ausreichenden Geschwindigkeit erfolgt. Bei einer photographischen Registrierung mittels Spiegelgalvanometer ist natürlich die Bestimmung der ganzen Hämolysezeit nach Anlegung der Tangente sehr genau möglich.

Zusammenfassung.

Es wird eine Methodik zur Messung der Hämolysegeschwindigkeit roter Blutkörperchen beschrieben, die auf der Registrierung der Änderung der Lichtdurchlässigkeit sich auflösender Blutkörperchen mittels einer elektrischen Photozelle beruht.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Würzburg.

Beiträge zur Differenzierung der pharmakologischen Wirkungen von Stoffen der Digitalisgruppe.

I. Vergleich der Wirkung von Digitoxigenin und Digitoxin auf das Elektrokardiogramm der Katze.

Von

Richard Walther.

Mit 6 Textabbildungen*.

(Eingegangen am 11. Juli 1940.)

Zwischen den Geninen, den eigentlichen Trägern der Herzwirksamkeit der Stoffe der Digitalisgruppe, und ihren zugehörigen Glykosiden bestehen neben vielen übereinstimmenden Zügen in mannigfacher Hinsicht auch Unterschiede. Bezüglich Wirkungsstärke, Eliminationsfähigkeit, Haftfestigkeit, Kumulationsvermögen zeigen die Genine vielfach ein anderes Verhalten als ihre Glykoside[1]. Im hiesigen Institut sind seit längerer Zeit vergleichende Untersuchungen über Glykoside und Genine der Digitalisgruppe im Gange. Dabei sind verschiedentlich Befunde erhoben worden, die auf Unterschiede im Wirkungsmechanismus hinwiesen (noch unveröffentlichte Beobachtungen von W. Neumann[2] und Befunde von W. Lindner[3]) und daran denken lassen, etwa vorhandene Wirkungsunterschiede durch elektrokardiographische Untersuchung festzulegen.

In der vorliegenden Arbeit soll daher mit Hilfe der Elektrokardiographie am unversehrten Tier die Wirkung von Digitoxigenin und Digitoxin, insbesondere auf Reizbildung und Reizleitung, verglichen werden. Wir wandten bei Katzen die letale Infusion nach Hatcher-Magnus an, bei gleichzeitiger elektrokardiographischer Registrierung. Bei diesem Verfahren ist es möglich, Einzelheiten der Herzwirkung vergleichend zu prüfen.

Die Wirkung von definierten Digitalisgeninen auf das Elektrokardiogramm, insbesondere bei langsamer Infusion, scheint noch nicht untersucht zu sein. Dresbach und Hosmer[4] haben die Veränderungen im Elektrokardiogramm nach einmaliger intravenöser Injektion von k-Strophanthidin untersucht. Sie fanden AV-Blockierung, Verbreiterung des QRS-Kom-

---

* Aus äußeren Gründen mußte die Zahl der Abbildungen weitgehend beschränkt werden.

[1] Zusammenfassende Darstellungen: Lendle, Handb. exper. Pharmakol., Erg.-Werk **1** (1935); Weese: Digitalis. Leipzig, Thieme, 1936. — [2] Neumann, W.: Erscheint in diesem Archiv. — [3] Lindner, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 169 (1939). — [4] Dresbach u. Hosmer: J. Pharmacol. (Am.) **27**, 254 (1926).

plexes und Veränderungen der Nachschwankung. Genauere zahlenmäßige Angaben bringt die kurze Mitteilung nicht.

A. Experimenteller Teil.

I. Versuchsanordnung.

Bei gesunden Katzen wurden letale Infusionen nach Hatcher-Magnus in leichter Äthernarkose durchgeführt. Eine derartige Narkose, wie sie bei der Titration nach Hatcher gebräuchlich ist, übt keine wesentliche Wirkung auf die Herztätigkeit der Katze aus. Bei den hier vorgelegten Versuchen war überdies die Narkosetechnik gleich, so daß Unterschiede in der Wirkung der untersuchten Stoffe nicht auf den Einfluß der Narkose bezogen werden können. Ergab sich, daß das Elektrokardiogramm vor Beginn des Versuches bereits pathologisch verändert war, wurde der Versuch verworfen. Auch die Fälle, bei denen vor Beginn der Infusion unter der Einwirkung der Äthernarkose Rhythmusstörungen auftraten (wie Eismayer und Wachsmuth[5] auch bei Narkose von Hunden nachwiesen), wurden ausgeschaltet.

Für die Versuche mit Digitoxin wurde das käufliche Präparat der Firma Hoffmann-La Roche benutzt, das in unseren Versuchen verwandte Digitoxigenin war von Herrn Doz. Dr. W. Neumann, Würzburg, im Rahmen anderer Untersuchungen hergestellt worden. Die Infusion erfolgte mit konstanter Geschwindigkeit in die V. femoralis. Unter Zugrundelegung der aus der Literatur bekannten Dosis letalis wurde nach jeweils 5—10% der zu erwartenden tödlichen Dosis ein Elektrokardiogramm in drei Ableitungen mit dem Kofferelektrokardiographen der Firma Hellige (Freiburg i. Br.) aufgenommen. Als Elektroden dienten Silbernadeln, die subcutan an den Extremitäten rumpfnahe eingeführt wurden.

II. Infusion von Digitoxigenin.

a) Dosis letalis.

Das Digitoxigenin wurde in physiologischer Kochsalzlösung mit Zusatz von 5% Alkohol in einer Lösung von 1 : 25000 infundiert.

Als Dosis letalis nach Hatcher ermittelten wir in unseren 13 Versuchen (vgl. Tabelle 1) durchschnittlich 0,443 mg/kg. Dieser Wert entspricht hinreichend den Angaben der Literatur. Fromherz und Welsch[6] geben als Dosis letalis für Digitoxigenin 0,50 mg/kg, Chen[7] 0,471 mg/kg und Rothlin[8] 0,42 mg/kg an. Die Infusionsgeschwindigkeit wurde abgestuft von 0,4—2,2 mg/kg/Std. In Versuchen bei extrem langsamer Infusion

[5] Eismayer u. Wachsmuth: Dtsch. Z. Chir. **217**, 289 (1929). — [6] Fromherz u. Welsch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 266 (1931). — [7] Chen: J. amer. pharmaceut. Assoc. **27**, 189 (1938). — [8] Rothlin: Zit. nach Mehnert: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 188 (1937).

lag die Dosis letalis etwas höher als bei den anderen. Eine sichere Abhängigkeit der Dosis letalis von der Infusionsgeschwindigkeit kann jedoch aus unseren Versuchen nicht abgeleitet werden.

b) Veränderungen im Elektrokardiogramm während der Infusion.

Bei der Infusion von Digitoxigenin in der oben angegebenen Weise waren schon frühzeitig Veränderungen im Elektrokardiogramm nachweisbar. Die wichtigsten Beobachtungen aus 12 Versuchen sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Sie sind jeweils in Beziehung zur letalen Dosis des betreffenden Versuches gesetzt. In Abb. 1 bis 6 sind einige charakteristische Ausschnitte unserer Elektrokardiogramme wiedergegeben.

Sinusfrequenz: Bereits nach Infusion von etwa 10—15% der Dosis letalis war die Verlangsamung der Schlagfolge des Herzens deutlich zu erkennen. Die Sinusbradykardie nahm weiterhin auch nach Eintritt der AV-Dissoziation rasch zu, konnte recht ausgeprägt werden. Sie war

Tabelle 1. Veränderungen im Elektrokardiogramm der Katze bei letaler Infusion von Digitoxigenin.

Lfd. Nr.	Tier Nr.	Tier-gewicht in kg	Dos. let. in mg/kg	Dauer der Infusion	Überleitungszeit			Sinusfrequenz		Geringste gemessene Frequenz vor der AV-Dissoziation in Sek./100	Völlige Kammer-automatie bei % Dos. let.	Frequenz des Kammereigenrhythmus	
					PQ Ausgangswert in Sek./100	Erste erkennbare Verlängerung bei % Dos. let.	Größte gemessene Länge von PQ in Sek./100	Ausgangswert in Sek./100	Geringste gemessene Frequenz: in Sek./100	Geringste gemessene Frequenz: bei % Dos. let.		Geringste gemessene Frequenz: in Sek./100	Geringste gemessene Frequenz: bei % Dos. let.	Größte gemessene Frequenz: in Sek./100	Größte gemessene Frequenz: bei % Dos. let. erreicht
I	3	2,2	0,5	30′ 30″	9	—	—	29	68	22	—	22	48	22	—	—
II	4	3,2	0,40	36 30	9	—	—	28	56	57	—	19	64	38	23	96
III	7	2,0	0,366	21 26	8	—	—	28	54	24	—	13	30	53	28	65
IV	8	2,05	0,343	20 44	6	10	10	22	36	28	—	19	23	19	19	67
V	9	2,2	0,468	49 27	8	—	—	24	48	33	—	21	40	33	28	76
VI	11	2,8	0,671	62 24	9	5	14	25	44	14	44	23	25	23	24	23
VII	12	2,75	0,602	89 50	8	11	24	32	48	16	48	38	62	38	—	—
VIII	14	3,5	0,453	34 25	8	15	16	32	90	48	40	26	66	40	32	85
IX	15	2,9	0,453	43 14	9	24	12	27	84	46	48	33	58	46	32	72
X	19	1,9	0,379	10 15	8	9	10	22	36	42	30	25	25	25	20	52
XI	20	2,4	0,458	15 24	8	—	16	28	48	30	42	30	40	39	25	64
XII	21	2,15	0,278	13 37	9	13	22	27	58	53	40	51	25	51	24	65
XIII	13	3,6	0,392	30 15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

individuell verschieden. Während der zweiten Hälfte der Infusion nahm die Sinusfrequenz stets wieder zu. In den späteren Vergiftungsstadien wurde der Sinusrhythmus häufig unregelmäßig, die P-Zacken waren oft

Veränderungen im Elektrokardiogramm der Katze während der Infusion von Digitoxigenin. Zeitschreibung $^1/_{50}$ Sekunde.

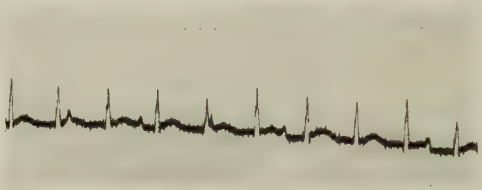


Abb. 1. Totale AV-Dissoziation. Tier Nr. 8 der Tabelle 1. 21 % der Dosis letalis; Ableitung III.

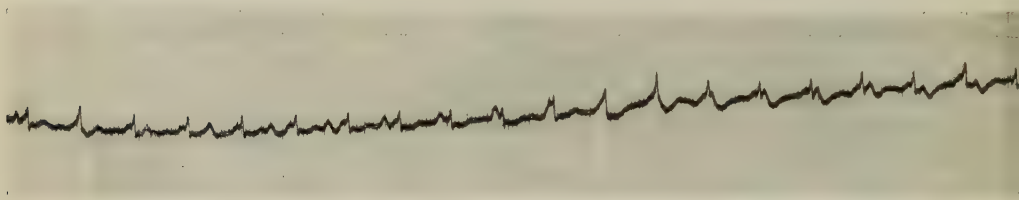


Abb. 2. Totale AV-Dissoziation bei nur wenig verschiedener Vorhof- und Kammerfrequenz. Überwandern von P über R. Tier Nr. 4 der Tabelle 1. 53 % der Dosis letalis; Ableitung II.

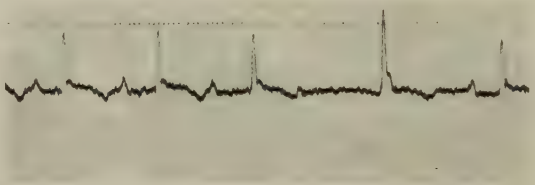


Abb. 3. Überleitungsstörung in Form der Wenckebachschen Periode. Tier Nr. 12 der Tabelle 1. 29 % der Dosis letalis; Ableitung II.

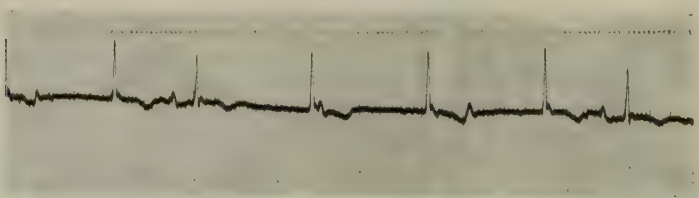


Abb. 4. Interferenzdissoziation bei Bradykardie. Tier Nr. 15 der Tabelle 1. 33 % der Dosis letalis; Ableitung II.

nur noch vereinzelt erkennbar. In einem Teil der Versuche enthielt das Elektrokardiogramm zum Schluß keine Vorhofzacken mehr, bzw. waren diese bei den hochgradigen Veränderungen des gesamten Elektrokardiogramms nicht mehr sicher abgrenzbar.

Gleichzeitig mit der Verlangsamung der Schlagfolge des Herzens trat in den meisten Versuchen eine Verlängerung der Überleitungszeit auf. In 2 Fällen (Tier Nr. 12 und 21), bei denen die AV-Dissoziation relativ spät zustande kam, erreichte das PQ-Intervall Werte von 0,24 und 0,22 Sekunden.

Die zahlenmäßigen Angaben über die Zeit des Auftretens und die Stärke der Sinusbradykardie, sowie über die Verlängerung der Überleitungszeit im einzelnen sind aus Tabelle 1 zu ersehen.

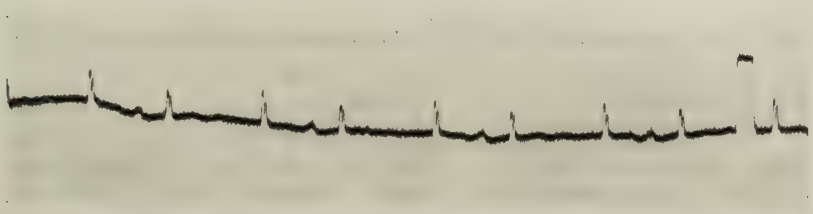


Abb. 5. Interferenz zwischen Sinusrhythmus und Kammerautomatie bei hochgradiger Sinusbradykardie. Sämtliche Sinusreize werden vom Vorhof zur Kammer übergeleitet mit verlängerter Überleitungszeit.

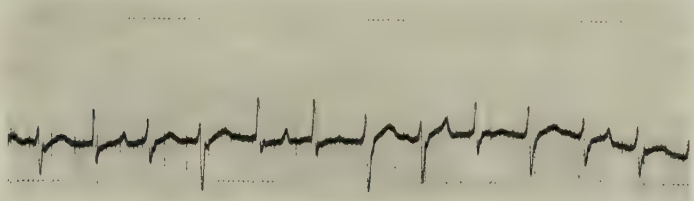


Abb. 6. Interferenz zwischen Sinusrhythmus und Kammerautomatie. Die Sinusreize werden regelmäßig auf Vorhof und Kammer übergeleitet. Die Reizbildung für die beginnende Kammerautomatie geht von mehreren Zentren aus. Tier Nr. 9 der Tabelle 1. 21% der Dosis letalis; Ableitung II.

P-Zacke: Regelmäßig war eine Formveränderung der P-Zacke während der Infusion zu erkennen. Mehrfach war schon nach Infusion von 10% der Dosis letalis eine Verringerung der Höhe der P-Zacke deutlich. Bei 20—30% der Dosis letalis war in den meisten Fällen die P-Zacke um ein Drittel oder die Hälfte ihrer normalen Größe, die sie vor dem Beginn der Infusion hatte, vermindert. Gleichzeitig mit dieser Formveränderung der P-Zacke zeigten mehrere Versuche mehr oder weniger deutlich eine Senkung der PQ-Strecke.

Atrioventrikuläre Dissoziation: Bereits nach Infusion von durchschnittlich 26% der Dosis letalis (vgl. Tabelle 1) waren in unseren Versuchen Vorhof- und Kammertätigkeit vollständig voneinander getrennt. Vorhof und Kammer schlugen jetzt unabhängig voneinander. Die Vorhöfe wurden vom Sinusrhythmus geführt, die Kammern von ihren eigenen Reizbildungszentren (Abb. 1). Der Übergang zur völligen Kammerautomatie vollzog sich in den einzelnen Versuchen nicht einheitlich:

Entweder löste die Kammerautomatie den Sinusrhythmus ab, schon ehe eine wesentliche Bradykardie zustande gekommen war. Dabei war einige Male zu beobachten, wie Vorhof und Kammer mit nahezu gleicher Frequenz unabhängig voneinander schlugen. Hierbei fiel infolge des geringen Frequenzunterschiedes die Vorhofzacke bei den aufeinanderfolgenden Herzaktionen stets in eine gegenüber der vorausgehenden Herzaktion zeitlich etwas verschiedene Phase, wanderte also allmählich über alle Phasen des Elektrokardiogramms hinweg (Abb. 2).

In einer zweiten Gruppe behielt die Kammertätigkeit ihre Abhängigkeit vom Sinusrhythmus auch bei zunehmender Sinusbradykardie. Bei der Dissoziation war der Kammereigenrhythmus in diesen Fällen gegenüber der Ausgangsfrequenz verlangsamt. Die Kammerfrequenz nahm nach der Dissoziation mitunter noch weiter ab, um dann wieder zuzunehmen, oder — in den meisten Fällen — nahm sofort nach der Dissoziation zu.

Mehrfach entwickelte sich die völlige AV-Dissoziation über eine stärkere Überleitungsstörung. Nach mehreren übergeleiteten Schlägen folgte mitunter einem P kein R; die nächsten Schläge waren wieder regelmäßig übergeleitet. Mehrfach entstand das Bild eines partiellen Blockes von der Art der Wenckebachschen Perioden mit Neigung zu Extrasystolen (Abb. 3).

Vor Ausbildung der völligen AV-Dissoziation war in einigen Versuchen eine Interferenz zwischen vom Vorhof zur Kammer übergeleiteten Reizen und der Kammerautomatie zu beobachten. In diesen Fällen war die Sinusfrequenz stark verlangsamt. In den langen Pausen zwischen den Sinusreizen, die mitunter sämtlich zu Vorhof und Kammer übergeleitet wurden, trat regelmäßig die Kammerautomatie auf. Beispiele hierfür sind in Abb. 4 bis 6 gegeben. (Der Versuch, dem Abb. 5 entstammt, ist in die Tabelle nicht aufgenommen, da die Digitoxigenin-Infusion nicht bis zum Tode des Tieres fortgesetzt wurde.)

Kammerfrequenz: Nach Eintritt der Kammerautomatie verhielt sich die Frequenz des Kammerrhythmus verschieden. Die von ihren eigenen Reizbildungszentren gesteuerte Kammertätigkeit konnte eine erhebliche Bradykardie aufweisen, die sogar in mehreren Versuchen nach der Dissoziation noch weiterhin zunahm, konnte jedoch auch während der gesamten Infusionszeit die Ausgangsfrequenz des Herzens annähernd beibehalten (vgl. Tabelle 1).

QRS-Gruppe: Vor der AV-Dissoziation war in keinem Falle eine nennenswerte Verbreiterung oder Formveränderung der QRS-Gruppe zu beobachten. Nach Eintritt der Kammerautomatie war die QRS-Gruppe zunächst nur geringfügig oder überhaupt nicht verändert. Die Reize, welche die Kammertätigkeit nach der Dissoziation regeln, haben also ihren Ursprungsort in den höheren Reizbildungszentren, gestalten deshalb den Kammerkomplex nicht wesentlich pathologisch. Sobald tiefere Zentren die Reizbildung übernehmen, nimmt die QRS-Gruppe pathologische

Formen an. In diesem Stadium zeigte das Elektrokardiogramm extrasystolisch geformte Kammerschläge. Häufig wechselten von verschiedenen Zentren ausgehende Reize ab, die an der verschiedenen Form der Kammerkomplexe deutlich voneinander zu unterscheiden waren. Während der weiteren Infusion wurde die Umgestaltung der QRS-Gruppe immer stärker, die niederen Reizbildungszentren traten hervor. Vor dem Herzstillstand wurde der Kammerkomplex breit und wellenförmig (Kammerflimmern).

Nachschwankung und Zwischenstück: Die Formveränderungen der T-Zacke und des Zwischenstückes waren in unserer Versuchsreihe wenig einheitlich. Charakteristisch waren Abflachung oder Negativität der T-Zacke und Senkung des Zwischenstückes unter die isoelektrische Linie. In unseren Versuchen waren die ersten sicheren Veränderungen der Nachschwankung zwischen 10 und 25% der Dosis letalis festzustellen. Die Abflachung bzw. Negativität der T-Zacke verringerte sich in einigen Fällen während der Infusion vorübergehend. Auch die Senkung des Zwischenstückes war uneinheitlich. Sie war einige Male recht deutlich, konnte aber auch ganz fehlen.

III. Infusion von Digitoxin.

In 5 Versuchen wurden zum Vergleich die elektrokardiographischen Veränderungen bei der letalen Infusion von Digitoxin untersucht. Tabelle 2 gibt Aufschluß über die im einzelnen ermittelten wichtigsten Werte. Auf die Ausführung einer größeren Zahl von Versuchen konnte hier verzichtet werden, da ähnliche Versuche mit Digitoxin in der Literatur bereits beschrieben sind. Die letale Dosis von Digitoxin betrug im Durchschnitt unserer Versuche

Tabelle 2. Veränderungen im Elektrokardiogramm der Katze bei letaler Infusion von Digitoxin.

Lfd. Nr.	Tier Nr.	Tiergewicht in kg	Dos. let. in mg/kg	Dauer der Infusion	Überleitungszeit: PQ-Ausgangswert in Sek./100	Überleitungszeit: Erste erkennbare Verlängerung bei % Dos. let.	Überleitungszeit: Größte gemessene Länge von PQ in Sek./100	Sinusfrequenz: Ausgangswert in Sek./100	Sinusfrequenz: Geringste gemessene Frequenz in Sek./100	Sinusfrequenz: Geringste gemessene Frequenz bei % Dos. let.	Geringste gemessene Frequenz vor der AV-Dissoziation in Sek./100	Völlige Kammerautomatie bei % Dos. let.	Frequenz des Kammereigenrhythmus: Geringste gemessene Frequenz in Sek./100	Frequenz des Kammereigenrhythmus: Geringste gemessene Frequenz bei % Dos. let.	Frequenz des Kammereigenrhythmus: Größte gemessene Frequenz in Sek./100	Frequenz des Kammereigenrhythmus: Größte gemessene Frequenz bei % Dos. let. erreicht
I	5	2,4	0,46	32′ 23″	8	47	10	30	34	77	34	77	27	77	22	99
II	6	2,5	0,51	35 30	8	—	9	26	38	48	38	58	26	58	19	82
III	10	3,0	0,59	50 7	8	30	9	26	34	48	32	48	28	48	—	—
IV	16	2,0	0,408	27 39	8	32	11	23	28	57	24	57	24	44	22	85
V	17	2,6	0,381	33 34	8	—	8	30	47	55	47	62	28	62	22	77

0,47 mg/kg. Dieser Wert stimmt mit den Angaben der Literatur ausreichend überein. Fromherz und Welsch[6] fanden 0,41 mg/kg als Dosis letalis, Bauer und Reindell[9] 0,309 mg/kg.

Nach Infusion von etwa 30—45% der Dosis letalis waren in unseren Versuchen die Herabsetzung der Sinusfrequenz und die Verlängerung der Überleitungszeit deutlich erkennbar (vgl. Tabelle 2). Die Sinusführung der Kammer ging ohne stärkere Bradykardie zur Kammerautomatie über. Die völlige Kammerautomatie trat im Durchschnitt bei 61% der Dosis letalis ein. Der QRS-Komplex war vor der AV-Dissoziation geringfügig verbreitert, nicht wesentlich verändert. Bei durchschnittlich 65% der Dosis letalis, also nur kurze Zeit nach Eintritt der AV-Dissoziation, begann eine stärkere pathologische Umformung der QRS-Gruppe. Sekundäre und tertiäre Reizbildungszentren kamen zum Durchbruch. Aus verschieden geformten QRS-Gruppen ist auf die gleichzeitige Tätigkeit mehrerer Reizbildungszentren zu schließen. Die Veränderungen der Nachschwankung begannen zwischen 30 und 60% der letalen Dosis. Zunächst war eine Abflachung der T-Zacke zu erkennen. In späteren Stadien wurde die T-Zacke negativ, das Zwischenstück sank unter die isoelektrische Linie. Die Kammerfrequenz nach Durchbruch der Kammerautomatie entsprach ungefähr der Frequenz des Herzens vor Beginn der Infusion. In keinem unserer Versuche war eine vorübergehende oder anhaltende Verlangsamung des Kammereigenrhythmus festzustellen (s. Tabelle 2).

B. Besprechung der Ergebnisse.

Bei der von uns angewandten Methodik sind sämtliche Einzelheiten des Vergiftungsablaufes im Elektrokardiogramm während der letalen Infusion zu erfassen, einschließlich der Einflüsse des extrakardialen Nervensystems.

Die Veränderungen des Elektrokardiogramms während der letalen Infusion von Glykosiden — meist Digitoxin und Strophanthin — beim Warmblüter sind verschiedentlich eingehend untersucht und beschrieben worden (unter anderem: Levine und Cunningham[10], Planelles und Werner[11], Gold und Mitarbeiter[12], Halsey[13], Hoekstra und Schleussing[14]), während entsprechende Untersuchungen über Genine offenbar noch nicht vorliegen. Die letzte ausführliche Darstellung mit Literaturübersicht gaben Bauer und Reindell[9]. Digitoxin und Strophanthin scheinen in gleicher Weise auf das Elektrokardiogramm einzuwirken. Unsere eigenen Versuche mit Digitoxin stimmen innerhalb der Fehlergrenzen

---

[9] Bauer u. Reindell: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 461 (1938). — [10] Levine u. Cunningham: Arch. int. Med. (Am.) **26**, 293 (1920). — [11] Planelles u. Werner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **96**, 21 (1923). — [12] Gold u. Mitarbeiter: Amer. Heart J. **6**, 237 (1930). — [13] Halsey: J. exper. Med. (Am.) **25**, 729 (1917). — [14] Hoekstra u. Schleussing: Z. exper. Med. **90**, 36 (1933).

mit den Angaben der Literatur überein. Es wird hier nur insoweit darauf hingewiesen, als sich Unterschiede gegenüber dem Digitoxigenin ergeben.

Unsere Versuche zeigen, daß in der Herzwirksamkeit zwischen Digitoxigenin und Digitoxin z. T. erhebliche Unterschiede bestehen. Die ersten Veränderungen im Elektrokardiogramm sind bei Infusion von Digitoxigenin frühzeitiger als bei Infusion von Digitoxin erkennbar.

Bradykardie und Verlängerung der Überleitungszeit beginnen bereits bei durchschnittlich 10% der Dosis letalis; also zu einem Zeitpunkt, zu dem bei der Infusion von Digitoxin und anderen Glykosiden noch keine Wirkung faßbar ist. Bauer und Reindell[9] geben an, daß bei der letalen Infusion von Digitoxin die Verlangsamung des Sinusrhythmus bei 24%, die Verlängerung der Überleitungszeit bei 35% der Dosis letalis auftreten. Auch Planelles und Werner[11] sahen erst nach Infusion von 33% der letalen Dosis von Digitoxin, Gitalin, Strophanthin, Scillaren Veränderungen im Elektrokardiogramm. Unsere eigenen Versuche mit Digitoxin stimmen mit diesen Angaben überein.

Die Bradykardie und die Verlängerung der PQ-Strecke beginnen aber bei Digitoxigenin nicht nur frühzeitiger, sie sind auch stärker ausgeprägt als bei Digitoxin. Bauer und Reindell fanden in Übereinstimmung mit früheren Untersuchern für Digitoxin als Mittelwerte für die stärkste Bradykardie 0,37 Sek. QQ-Abstand, bei 59% der Dosis letalis. Wir können diese Angaben nach unseren Versuchen mit Digitoxin bestätigen. Für Digitoxigenin fanden wir die stärkste Verlangsamung des Sinusrhythmus im Mittel mit 0,56 Sek. PP-Abstand bei durchschnittlich 34% der Dosis letalis. Diese Unterschiede zwischen dem Genin und dem Digitoxin sind groß, liegen weit außerhalb der Schwankungsbreite derartiger Versuche.

Bei Digitoxigenin erfolgt auch der Übergang vom Sinusrhythmus zum Kammereigenrhythmus bei einem geringeren Prozentsatz der tödlichen Dosis als bei Digitoxin und Strophanthin. Bauer und Reindell beobachteten totale Kammerautomatie nach Infusion von 68% der Dosis letalis Digitoxin; Robinson und Wilson[15] bei 70% der Dosis letalis von nicht näher definierten Digitalistinkturen. Bei letaler Strophanthininfusion sahen Hoekstra und Schleussing[14] Kammerautomatie bei etwa 70% der Dosis letalis. Wir fanden bei unseren Versuchen mit Digitoxin Kammerautomatie bei durchschnittlich 60,5% der tödlichen Dosis. Bei Digitoxigenin kam der Kammereigenrhythmus nach Infusion von durchschnittlich 26% der Dosis letalis zum Durchbruch.

Die bei der Infusion von Digitoxigenin aufgenommenen Elektrokardiogramme zeigen, daß bei der Auslösung der Kammerautomatie verschiedene Faktoren zusammenwirken. Mehrfach ging eine Überleitungsverzögerung in eine partielle Blockierung über, der die völlige Kammer-

[15] Robinson u. Wilson: J. Pharmacol. (Am.) **10**, 491 (1918).

automatie folgte. In anderen Fällen begann die Kammerautomatie ohne erkennbare Beeinträchtigung der Überleitung vom Vorhof zur Kammer. Mitunter bei sehr starker Bradykardie erschien die Kammerautomatie in den Pausen zwischen den Sinusreizen, die selbst regelmäßig auf die Kammer übergeleitet wurden. Fördernd auf das Auftreten der Kammerautomatie wirkte in diesen Fällen offenbar die hochgradige Bradykardie. In einem Teil der Fälle begann jedoch die Kammerautomatie, ohne daß eine stärkere Bradykardie vorausging.

Es überschneiden sich also zwei Vorgänge bei der Entstehung der Kammerautomatie: Erschwerung der Reizüberleitung vom Vorhof zur Kammer und direkter Anreiz auf die Tätigkeit der heterotopen Reizbildungszentren. Der Anreiz zur Automatie dieser Zentren wird durch die Sinusbradykardie weiterhin verstärkt. Diese Erscheinungen sind als Phasen der Digitalisvergiftung in der Literatur beschrieben und nicht grundsätzlich neu. Jedoch sind diese Verhältnisse bei letaler Infusion von Digitoxigenin am unversehrten Tier infolge der stärkeren und frühzeitigeren Wirkung auf Frequenz und Überleitungszeit besser zu beobachten und gegeneinander abzugrenzen als bei den untersuchten Glykosiden.

Weiterhin war nur bei Digitoxigenin, nicht bei Digitoxin, in einem Teil der Versuche auch der Kammereigenrhythmus bradykard (s. Tabellen 1 und 2). Und zwar dann, wenn zur Zeit des Beginnes der AV-Dissoziation bereits eine stärkere Sinusbradykardie bestand.

Bezüglich der übrigen Veränderungen im Elektrokardiogramm, vor allem der Umgestaltung des Kammerkomplexes unter dem Einfluß heterotoper Zentren und der Veränderungen der Nachschwankung, sind zwischen Digitoxigenin und Digitoxin keine Unterschiede erkennbar. Ein Einfluß der Infusionsgeschwindigkeit auf die Veränderungen des Elektrokardiogramms war nicht festzustellen.

Die wichtigsten im Elektrokardiogramm faßbaren Unterschiede zwischen Digitoxigenin und Digitoxin bestehen somit in der verschieden starken Wirkung auf Frequenz, Überleitungszeit und Kammerautomatie.

Für die Deutung dieser Erscheinungen ist vor allem die Vaguswirkung zu berücksichtigen. Straub[16] erkannte, daß unter Digitaliswirkung die Empfindlichkeit des Herzmuskels für den physiologischen Vagustonus gesteigert wird. Seit den Untersuchungen von Heymans[17–19], Hering[20–22] u. a. (s. Zusammenstellung der Literatur bei Lendle und Weese[1]) gilt als gesichert, daß die Digitaliswirkung nicht direkt am Vagus-

[16] Straub: Handb. exper. Pharmak. Bd. II, 2. — [17] Heymans, I. F., u. C.: J. Pharmacol. (Am.) **29**, 203 (1926). — [18] Heymans, C.: Erg. Physiol. usw. **28**, 300 (1929). — [19] Heymans, C., Bouckaert u. Regniers: Arch. internat. Pharmacodynam. **44**, 31 (1932). — [20] Hering: Pflügers Arch. **206**, 721 (1924). — [21] Hering: Z. Kreisl.forsch. **22**, 287 (1930). — [22] Hering: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **1930**, S. 192.

zentrum angreift, sondern in erster Linie die Pressorezeptoren und den Herzmuskel selbst sensibilisiert. Die Ergebnisse unserer Versuche, insbesondere die stärkere Bradykardie, können vielleicht dahin gedeutet werden, daß im vorliegenden Falle bei dem Genin diese „Vaguswirkung" stärker ist als bei dem Glykosid. Auch die stärkere Verlängerung der Überleitungszeit könnte mit einer stärkeren indirekten Vaguswirkung des Digitoxigenins zusammenhängen. Ebenso ist bei unseren unter starker Bradykardie verlaufenden Versuchen vielleicht in einem Teil der Fälle die stärkere Vaguswirkung am frühzeitigen Auftreten der Kammerautomatie beteiligt, da bekanntlich die Bradykardie an sich schon geeignet ist, niedere Reizbildungszentren zur Tätigkeit anzuregen. Versuche zur genaueren Analyse dieser Fragen konnten wir aus äußeren Gründen noch nicht durchführen.

Weiterhin scheint Digitoxigenin die Reizbildung in den tieferen Reizbildungszentren auch direkt stärker zu fördern, als die Glykoside. So wäre zu verstehen, daß die Kammerautomatie in einem Teil der Fälle ohne vorhergehende wesentliche Bradykardie und ohne Blockierung der Überleitung die Sinusführung so frühzeitig ablöst.

Unsere Versuche stellen einen weiteren Beitrag zur Frage des Angriffspunktes der Digitalisstoffe dar. W. Lindner[3] fand bei seinen Versuchen, daß nach subcutaner Injektion von Gitoxigenin und Oleandrigenin die Tiere schwere allgemeine Schädigungen zeigten, bei der nachfolgenden Titration mit Strophanthin jedoch überraschenderweise die volle Dosis letalis oder sogar noch mehr bis zum Herzstillstand verbrauchten. Er schloß daraus, daß bei Gitoxigenin und Oleandrigenin andere Angriffspunkte als bei den Glykosiden im Vordergrund stehen. Wir konnten auch mit Hilfe der Elektrokardiographie zeigen, daß offenbar der Wirkungsmechanismus innerhalb der Stoffe der Digitalisgruppe nicht einheitlich ist. Wieweit die beobachteten Unterschiede zwischen den untersuchten Stoffen Digitoxigenin und Digitoxin auf einer reinen Vaguswirkung beruhen oder auf Vorgänge im Herzmuskel selbst zurückzuführen sind, bedarf noch weiterer Klärung. Auch ist nach diesen Versuchen noch nicht zu entscheiden, inwieweit die aufgezeigten Unterschiede zwischen Genin und Glykosid auch für andere Stoffe dieser Gruppen gelten und verallgemeinert werden dürfen.

Zusammenfassung.

Vergleichende Untersuchungen über die Veränderungen des Elektrokardiogramms durch herzwirksame Glykoside und die entsprechenden Genine in chemisch definierter Form fehlten bisher. Es wird über derartige Versuche bei letaler Infusion von Digitoxigenin und Digitoxin an der Katze nach Hatcher-Magnus berichtet.

Digitoxigenin zeigt im Elektrokardiogramm typische Digitaliswirkung, jedoch bestehen in der Ausbildung der verschiedenen Veränderungen deutliche Unterschiede gegenüber Digitoxin.

Bei Infusion von Digitoxigenin sind Sinusbradykardie und Verlängerung der Überleitungszeit wesentlich stärker ausgeprägt und treten bei einem geringeren Prozentsatz der tödlichen Dosis auf, als bei Digitoxin.

Die Kammerautomatie kommt bei Digitoxigenin früher zum Durchbruch als bei Digitoxin.

Nach der AV-Dissoziation kann bei Digitoxigenin die Frequenz des Kammereigenrhythmus starke Verlangsamung aufweisen, was bei Digitoxin anscheinend nicht der Fall ist.

Die Versuche liefern weitere Beiträge zur Frage des Angriffspunktes der Digitalisstoffe. Die stärkere Beeinflussung der Sinusfrequenz und der Überleitungszeit durch das Genin läßt daran denken, daß es eine stärkere Vaguswirkung als das Glykosid besitzt.

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Weitere Untersuchungen über Antithyreoglobulin und Antithyroxin.

Von

S. Went, K. Piribauer und **L. Kesztyüs.**

(Eingegangen am 8. Juli 1940.)

Die in unserer vorhergehenden Arbeit (1) beschriebenen Versuche haben darauf hingewiesen, daß mittels wiederholter parenteraler Einführung von Thyreoglobulin an Ratten und Meerschweinchen ein Zustand hervorgebracht werden kann, in dem der O_2-Verbrauch dieser Tiere stark herabgesetzt wird. Die Reaktionsbereitschaft solcher Tiere ist auch subcutan eingespritztem Thyroxin gegenüber vermindert, so daß der O_2-Verbrauch der Tiere nur auf Thyroxingaben von über 15 mg eine deutliche Steigerung zeigt. Diese an Ratten und Meerschweinchen gemachte Beobachtung dürfte ihre Erklärung darin finden, daß in diesen Versuchen das Thyreoglobulin als Antigen in serologischem Sinne wirkte, so daß ihre parenterale Verabreichung die Entstehung von gegen Thyreoglobulin und Thyroxin gerichteten Antikörpern herbeigeführt hatte. Es wurde angenommen, daß in diesen Versuchen das Thyreoglobulin sich als ein chemospezifisches Antigen verhielt, in dem Sinne, daß das Thyroxin neben dem Eiweißschlepper die Rolle der spezifischen Gruppe spielte, wodurch sie die Spezifität der entstandenen Antikörper beeinflußt bzw. bestimmt hatte. Diese Deutung wurde hauptsächlich durch die Tatsache unterstützt, daß der thyroxinhemmende Faktor bei Ratten durch Sera thyreoglobulinvorbehandelter Tiere auch auf Normaltiere übertragbar ist, d. h. bei Ratten durch eine mit Antithyreoglobulin-Immunserum durchgeführte passive Immunisierung die O_2-Verbrauch-steigernde Wirkung des eingespritzten Thyroxins aufgehoben wurde.

Wir haben im weiteren diese Untersuchungen mit einigen Kontrollversuchen ergänzt. Es wurde 1. der Jod- bzw. Thyroxingehalt der benutzten, nach der Methode von Oswald (2) hergestellten Ochsen-Thyreoglobulinpräparate, 2. die Stoffwechselwirkung thyroxinfreier Globuline und 3. der O_2-Verbrauch von Leber- und Muskelgewebe normaler und thyreoglobulinbehandelter Ratten untersucht.

Die Jodbestimmungen waren nach der Methode von Fellenberg durchgeführt. Es ergab sich, daß das von uns benutzte trockene Thyreoglobulin 0,39% Jod enthält.

Die Frage, ob in unseren Thyreoglobulinpräparaten das Schilddrüsenhormon in wirksamer Form anwesend ist, wurde durch Fütterungsversuche untersucht. Nach Bestimmung des normalen Stoffwechsels enthielten vier männliche Ratten durch Magensonde täglich 5—50 mg Thyreoglobulin. Die Versuchsergebnisse sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1.

Datum	Ratte Nr. 1		Ratte Nr. 2		Ratte Nr. 3		Ratte Nr. 4	
	Körpergewicht	g O_2 / kg/Std.	Körpergewicht	g O_2 / kg/Std.	Körpergewicht	g O_2 / kg/Std.	Körpergewicht	g O_2 / kg/Std.
27. IX.	153	3,7964	159	2,6422	166	2,7707	166	3,0245
28. IX.	154	3,7990	161	2,7669	169	2,7237	178	3,1138
28. IX.	5 mg Thgl. per os		6 mg Thgl. per os		6 mg Thgl. per os		5 mg Thgl. per os	
29. IX.	155	3,9099	159	2,9967	169	2,6636	177	2,8121
29. IX.	50 mg Thgl. per os		169	2,6626	170	2,8701	50 mg Thgl. per os	
30. IX.	148	3,7635	159	2,8152	166	2,4408	165	3,0000
30. IX.	50 mg Thgl. per os		38 mg Thgl. per os		38 mg Thgl. per os		50 mg Thgl. per os	
1. X.	156	3,5408	160	2,7554	171	2,7326	171	2,8485
1. X.	50 mg Thgl. per os		38 mg Thgl. per os		38 mg Thgl. per os		50 mg Thgl. per os	
2. X.	146	3,3131	148	3,4758	160	3,5341	158	2,8221
2. X.	50 mg Thgl. per os		38 mg Thgl. per os		38 mg Thgl. per os		50 mg Thgl. per os	
3. X.	145	3,3514	154	3,5691	160	3,6578	162	3,2158
3. X.	50 mg Thgl. per os		38 mg Thgl. per os		38 mg Thgl. per os		50 mg Thgl. per os	
4. X.	145	3,7645	145	3,6165	155	3,5702	163	2,8014
4. X.	50 mg Thgl. per os		38 mg Thgl. per os		28 mg Thgl. per os		50 mg Thgl. per os	
5. X.	136	3,7407	152	**3,9941**	165	3,8064	158	2,6540
6. X.	134	3,5807	38 mg Thgl. per os		38 mg Thgl. per os		156	3,1299
7. X.	150	3,9872	141	3,5951	152	3,4893	170	2,6974
8. X.	133	3,5047	38 mg Thgl. per os		38 mg Thgl. per os		173	3,2831
9. X.	130	3,6681	142	3,4512	150	3,1268	163	2,7475
10. X.	129	3,7072	143	3,7442	147	**3,8423**	169	3,3718
11. X.	132	3,6214	143	3,0066	151	3,2887	156	3,3196
12. X.	129	3,9435	141	3,0926	153	2,5635	146	3,1637
13. X.	126	3,8019	142	3,1856	153	2,5748	137	3,9391
14. X.	120	3,6440					127	3,7106
15. X.	115	**4,7420**					118	3,1298
16. X.	119	4,1422					114	**4,1310**
17. X.	130	4,1407					114	4,0597

Wie aus der Tabelle 1 ersichtlich ist, nimmt bei peroraler Einführung des Thyreoglobulins der O_2-Verbrauch der Versuchstiere um 25—30% zu; es ist klar, daß im Magendarmtrakt das Thyroxin seine Eiweißverbindung verliert und auf diese Weise in einer immunbiologisch inaktiven und nur physiologisch wirksamen Form resorbiert wird. Diese Versuchsergebnisse beweisen einerseits, daß das von uns benutzte Thyreoglobulinpräparat keine solchen Wirkstoffe enthält, deren Anwesenheit etwa für die Herabsetzung des Stoffwechsels verantwortlich gemacht werden könnte; andererseits aber beweisen diese Versuche auch, daß das Thyroxin in unseren Thyreoglobulinpräparaten in wirksamer Form anwesend ist.

Auf Grund der Eiweißnatur des Thyreoglobulins erhebt sich auch die Frage, ob eine Herabsetzung des Stoffwechsels vielleicht auch durch parenterale Einführung thyroxinfreier Eiweißstoffe hervorgebracht werden kann. Zur Entscheidung dieser Frage waren sechs männliche Ratten mit aus Rinderserum durch Oswalds Methode hergestelltem Globulin intraperitoneal behandelt. Der Ablauf der Behandlung und die Ergebnisse der Stoffwechselbestimmungen sind in der Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2.

Datum 1939	Ratte Nr. 1		Ratte Nr. 2		Ratte Nr. 3	
	Körpergewicht g	$\frac{g\ O_2}{kg/Std.}$	Körpergewicht g	$\frac{g\ O_2}{kg/Std.}$	Körpergewicht g	$\frac{g\ O_2}{kg/Std.}$
13. XI.	162	2,3806	116	3,1460	139	2,7613
13. XI.		10 mg Serumglobulin intraperitoneal				
17. XI.	169	2,3078	124	3,1963	153	2,8729
18. XI.		10 mg Serumglobulin intraperitoneal				
20. XI.	163	2,6538	112	3,1580	140	2,9153
21. XI.		10 mg Serumglobulin intraperitoneal				
24. XI.	170	2,3732	120	3,3567	139	2,4695
25. XI.		10 mg Serumglobulin intraperitoneal				
30. XI.	173	2,7228	125	2,9583	137	2,4776
1. XII.		10 mg Serumglobulin intraperitoneal				
4. XII.	178	2,5321	124	3,3834	137	3,1103
5. XII.		10 mg Serumglobulin intraperitoneal				
9. XII.	168	2,5315	126	3,4084	147	3,0576
21. XII.		10 mg Serumglobulin intraperitoneal				
28. XII.		15 mg	„	„		
1940						
2. I.		15 mg	„	„		
5. I.		40 mg	„	„		
7. I.		50 mg	„	„		
8. I.		60 mg	„	„		
10. I.	166	2,5051	110	3,4035	120	2,8664
11. I.	165	2,5810	103	3,3074	134	2,6880
12. I.	162	2,5305	110	3,2696	134	2,7573
12. I.			2 mg Thyroxin subcutan			
13. I.	167	2,3766	110	**3,9103**	117	3,1766
14. I.	167	2,8272	103	3,6094	121	3,0616
15. I.	150	3,0200	108	3,8242	118	3,2589
16. I.	159	**3,0234**	114	3,5818	119	3,4488
17. I.	170	2,6185	111	3,6886	120	**3,8664**
18. I.	160	2,9261	112	3,9105	124	3,1059
19. I.	166	2,7879				

Aus der Tabelle 2 geht hervor, daß durch intraperitoneale Einführung des Serumglobulins der Stoffwechsel der Versuchstiere überhaupt nicht beeinflußt wurde; es erfolgte dagegen am Ende des Versuchs auf Thyroxingabe eine normale Steigerung des O_2-Verbrauchs um 20—40%.

Es wurde schon wiederholt darauf hingewiesen, daß auf Grund unserer bisherigen Beobachtungen die Ursache der Thyroxinresistenz thyreo-

globulinbehandelter Tiere in erster Linie darin zu suchen ist, daß das Thyreoglobulin als chemospezifisches Antigen die Entstehung spezifischer, antithyroxisch wirkender Immunstoffe herbeiführt, welche, ähnlich wie die übrigen Antikörper, überwiegend im Blute der Versuchstiere anwesend sind. Es kann aber daneben angenommen werden, daß nach längerdauernder Thyreoglobulinbehandlung auch die Empfindlichkeit der Zellen und Gewebe sowohl dem eigenen wie auch dem von außen artefiziell eingeführten Thyroxin gegenüber herabgesetzt wird.

Zur Klärung dieser Frage wurde der O_2-Verbrauch von Leber- und Muskelgewebe normaler und thyreoglobulinbehandelter Ratten mittels der Warburgschen Methode untersucht. Die Versuche waren an gewachsenen, männlichen Ratten vom 30. März bis 1. Mai durchgeführt. Die Leber und verschiedene Muskeln der Versuchstiere waren in einer Latapie-Schneidemaschine zermahlen, der Brei bei Anwesenheit von Phosphatpuffer (p_H = 7,1 bis 7,2) mit Kreps Ringer verrieben. Zu 2,5 ccm des auf diese Weise gewonnenen 20%igen Muskel- bzw. Leberbreies wurden 15 mg Glykogen und 4 mg Fumarat hinzugefügt und der O_2-Verbrauch

Tabelle 3.

Versuchstier Nr.	O_2-Verbrauch cmm/Std.	Trockensubstanz mg	Q_{O_2}
8	944,6	140,7	6,7
9	887,6	140,7	6,3
10	975,3	161,3	6,0
11	910,8	158,3	5,7
12	921,6	172,3	5,3
13	830,9	162,1	5,1
14	795,6	155,7	5,1
15	850,0	169,2	5,0
16	740,3	153,8	4,8
17	763,0	170,7	4,5
18	569,0	159,4	3,7
		Mittelwert:	5,2

Tabelle 4.

Versuchstier Nr.	O_2-Verbrauch cmm/Std.	Trockensubstanz mg	Q_{O_2}
19	536,5	161,1	3,3
20	440,0	155,5	2,8
21	381,1	138,2	2,8
22	370,0	148,8	2,5
23	452,0	196,7	2,3
24	382,8	166,5	2,3
25	384,2	182,6	2,1
26	353,0	176,8	2,0
27	385,0	200,1	1,9
		Mittelwert:	2,5

Tabelle 5.

Versuchstier Nr.	O_2-Verbrauch cmm/Std.	Trockensubstanz mg	Q_{O_2}
1	667,6	163,4	4,0
2	620,8	155,8	3,9
3	738,5	187,5	3,8
4	675,5	187,0	3,6
5	720,0	194,5	3,5
		Mittelwert:	3,8

Tabelle 6.

Versuchstier Nr.	O_2-Verbrauch cmm/Std.	Trockensubstanz mg	Q_{O_2}
6	357,0	167,5	2,1
7	346,8	167,4	2,1
8	340,3	175,2	1,9
9	310,8	182,7	1,7
10	276,5	174,7	1,7
		Mittelwert:	1,9

bei 37° C bestimmt. Wir bestimmten auch den Trockensubstanzgehalt der angewendeten Gewebsemulsionen, sowie den Q_{O_2}.

Die an Muskelbrei normaler Ratten gewonnenen Versuchsergebnisse sind in der Tabelle 3 zusammengefaßt.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, zeigen die Q_{O_2}-Werte der angewendeten Rattenmuskelemulsionen erhebliche Schwankungen. Der Mittelwert kann in 5,2 bestimmt werden, mit der Bemerkung, daß Streuungen von $\pm 25\%$ vorgekommen sind.

Die Atmung der Leberemulsionen normaler Ratten ist in der Tabelle 4 dargestellt.

Diese Tabelle zeigt, daß auch die Q_{O_2}-Werte von Leberemulsionen normaler Ratten erhebliche Schwankungen (1,9—3,3) zeigen. Aus 9 Versuchen ergibt sich ein Mittelwert von 2,4, mit Streuungen von $\pm 28\%$.

Es wurde im weiteren der O_2-Verbrauch von Muskel- und Leberemulsionen thyreoglobulinbehandelter Ratten untersucht. Die Behandlung mittels Thyreoglobulin erfolgte vom 21. November 1939 bis 30. März 1940. Der Gang der Behandlung war übrigens derselbe wie in den vorherigen Versuchen. Die Tiere erhielten insgesamt 400 mg Thyreoglobulin intraperitoneal.

Tabelle 5 zeigt die Werte des O_2-Verbrauchs der Muskelemulsionen von mit Thyreoglobulin behandelten Ratten.

Wie Tabelle 5 zeigt, schwanken die Q_{O_2}-Werte der Muskelemulsionen thyreoglobulinbehandelter Ratten zwischen 3,5 und 4,0. Der Mittelwert kann in 3,8 angegeben werden (mit einer Streuung von $\pm 10\%$), was — verglichen mit dem Q_{O_2} des normalen Rattenmuskels — eine Abnahme von 25% bedeutet. Diese Abnahme der Muskelatmung entspricht vollkommen derjenigen Herabsetzung des Stoffwechsels, welche früher an unverletzten Tieren beobachtet wurde.

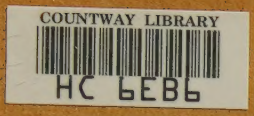
Dasselbe war der Fall auch bei der Leberemulsion thyreoglobulinbehandelter Ratten (s. Tabelle 6).

Es kann also auf Grund dieser Versuche festgestellt werden, daß nach parenteraler Thyreoglobulinbehandlung nicht nur am unversehrten Tier, sondern auch an isolierten Geweben eine 25%ige Abnahme des O_2-Verbrauchs festgestellt werden kann. Es scheint also, daß die erhöhte Thyroxinresistenz thyreoglobulinbehandelter Ratten, wenigstens zum Teil, auf die veränderte Thyroxinempfindlichkeit der Gewebe zurückzuführen ist. Diese Frage kann einstweilen nicht mit Sicherheit beantwortet werden. Über die Thyroxinempfindlichkeit der Gewebe thyreoglobulinbehandelter Tiere wird übrigens in einer nächsten Arbeit eingehend berichtet.

Zusammenfassung.

Der erste Teil der Untersuchungen richtet sich auf den Thyroxingehalt des in vorherigen und gegenwärtigen Versuchen benutzten Thyreoglobulinpräparats, sowie auf die Stoffwechselwirkung von thyroxinfreien Eiweißkörpern. Es wurde festgestellt, daß das benutzte Thyreoglobulin 0,39% Jod enthält und bei peroraler Einführung den Stoffwechsel der Versuchstiere um 25–40% steigert — weiter, daß thyroxinfreies Serumglobulin auf den Stoffwechsel der Tiere keinen Einfluß hat. Der zweite Teil der Versuche weist darauf hin, daß der O_2-Verbrauch von Leber- und Muskelgewebe thyreoglobulinbehandelter Ratten gegen den von Normaltieren eine Abnahme von etwa 25% zeigt.

Literatur.

1) Went, I., K. Piribauer, u. L. Kesztyüs: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 312 (1939). — 2) Oswald, A.: Biol. Zbl. **1**, 249 (1903).

41B 212